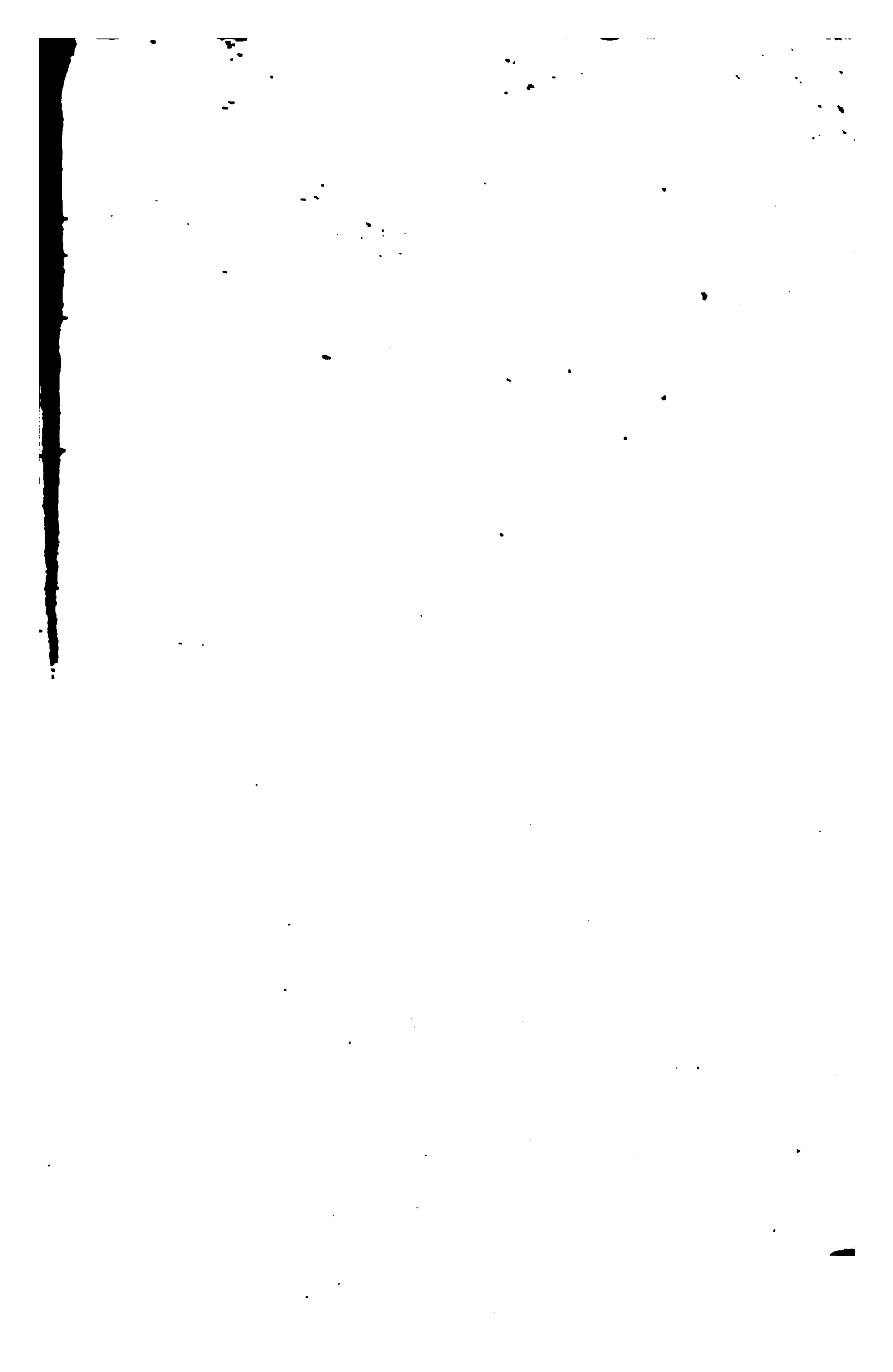
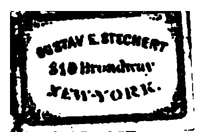





GUSTAV E. STECHERT
810 Broadway
NEW-YORK.

ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

Prof. E. BAUMANN in Freiburg, Prof. GÄHTGENS in Giessen, Prof. O. HAMMARSTEN in Upsala, Prof. HÜFNER in Tübingen, Prof. HUPPERT in Prag, Prof. JAFFE in Königsberg, Prof. E. LUDWIG in Wien, Prof. E. SALKOWSKI in Berlin und Prof. E. SCHULZE in Zürich

herausgegeben von

F. HOPPE-SEYLER,

Professor der physiologischen Chemie an der Universität Strassburg.

FÜNFZEHNTER BAND.

STRASSBURG
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER
1891.

Inhalt des fünfzehnten Bandes.

Heft V.

Heft VI.

Quantitative Untersuchungen über die Resorption und Ausscheidung des Quecksilbers bei innerlicher Verabreichung von Hydrargyrum salicylicum.

Von

L. Böhm, Assistent.

(Aus dem chemischen Laboratorium der k. b. Central-Thierarzneischule München.)
(Der Redaction zugegangen am 22. Mai 1890.)

Obwohl die Resorption und Ausscheidung des Quecksilbers der Gegenstand sehr zahlreicher Untersuchungen gewesen ist, so beschränkt sich doch die Mehrzahl der hierauf bezüglichen chemischen Arbeiten auf den Menschenharn und den qualitativen Nachweis. Die erstere Beschränkung ist zwar in vielen Publicationen nicht ausgesprochen, lässt sich aber in der Regel mit hinreichender Wahrscheinlichkeit aus dem Zusammenhange entnehmen. Sie erklärt sich aus der Häufigkeit der Quecksilberkuren beim Menschen, sowie aus dem Umstande, dass der Menschenharn für den Nachweis des Quecksilbers einfachere Verhältnisse bietet wie andere dem thierischen oder menschlichen Körper entstammende Stoffe.

Die qualitative Prüfung des Harnes auf Quecksilber vermag im Falle des positiven Ergebnisses den Nachweis zu liefern, dass Resorption und Ausscheidung stattgefunden hat,

sie giebt aber keinen bestimmten Aufschluss darüber, ob die eine oder die andere vollständig erfolgt ist. Diesen Aufschluss vermögen nur quantitative Untersuchungen zu geben, welche sich auf Koth und Harn, je nach der Lage des Falles auch auf die Organe des Versuchsobjectes zu erstrecken haben.

Derartige Untersuchungen habe ich in der mir zugänglichen Literatur nur in sehr beschränkter Zahl auffinden können, nämlich eine solche über Aufnahme und Ausscheidung des Quecksilbers bei innerlicher Verabreichung von Sublimat von Schneider[1]), bei Verabreichung von Kalomel von demselben Autor und von Riederer[2]). Diese Arbeiten, deren Einzelnheiten ich später weiter berühren werde, haben zu dem bemerkenswerthen Ergebniss geführt, dass die genannten Quecksilberverbindungen vom Darme aus nur zum Theile resorbirt, zum grösseren Theile aber mit dem Kothe wieder ausgeführt werden.

Nachdem durch Müller[3]) der Nachweis geführt wurde, dass nach innerlicher Verabreichung des Hydrargyrum salicylicum reichlich Quecksilber im Harne auftritt, somit zweifellos vom Magendarm aus Resorption des genannten Präparates statthat, schien mir die Frage nahe zu liegen, ob auch hier die Resorption eine unvollständige sei.

Die Beantwortung dieser Frage erforderte zunächst die Wahl einer Methode für die quantitative Bestimmung des Quecksilbers in thierischen Ausscheidungen und Organen.

Solche Quecksilberbestimmungen habe ich, abgesehen von den von V. Lehmann[4]) und Oskar Schmidt angegebenen Schätzungsmethoden, publicirt gefunden von Buch-

---

[1]) Wiener med. Jahrbücher, 1861, S. 124.
[2]) Buchner's Repertorium für Pharmazie, 1868, Bd. 17, S. 257.
[3]) Monatshefte für prakt. Dermatologie, VIII, S. 304.
[4]) Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. VI, S. 39, 1881.

ner sen.[1]), Schneider[2]), Riederer[3]), Aug. Mayer[4]), E. Ludwig[5]), Oskar Schmidt[6]), O. Hassenstein[7]), Léon Brasse und Wirth[8]), Remond[9]), Winternitz[10]).

Die von den genannten Autoren benützten Methoden vertheilen sich auf drei verschiedene Grundgedanken:

1. Das Quecksilber wird durch trockne Destillation gewonnen, auf verschiedene Weise gereinigt und als solches gewogen. (Bestimmung durch trockne Destillation.) Auf diese Weise hat Buchner aus dem Blute einer mit Quecksilber behandelten Person Quecksilber gewonnen. Aug. Mayer und O. Hassenstein haben hierüber Controluntersuchungen angestellt. Bei Buchner ist nicht klar ausgesprochen, ob das getrocknete Blut mit oder ohne Zusatz destillirt wurde. Wahrscheinlich wurde dasselbe mit der halben Gewichtsmenge Kaliumkarbonat verrieben, wie dies weiter unten für den Nachweis des Quecksilbers empfohlen wird. Das erhaltene Quecksilber wurde mit warmem Alkohol gereinigt. Da über Controlversuche nichts angegeben ist, so bleibt es unentschieden, ob die Buchner'sche Methode als quantitative Bestimmung gelten kann. Aug. Mayer und O. Hassenstein destillirten die betr. Substanzen mit Cal-

---

[1]) Buchner, Vollständiger Inbegriff der Pharmazie, Bd. VII, Toxikologie, 1827, S. 538.

[2]) A. a. O.

[3]) A. a. O.

[4]) Wiener med. Jahrbücher, 1877, S. 29.

[5]) Ebenda, S. 143.

[6]) Ein Beitrag zur Elimination des Quecksilbers aus dem Körper etc., Inaug.-Diss., Dorpat 1879.

[7]) Versuche über die Quecksilberausscheidung durch die Galle, Inaug.-Diss., Königsberg 1879.

[8]) Compt. rend. de la société de biologie, 1887, S. 297 und S. 774.

[9]) Referat im Jahresb. f. gesammte Medicin, 1888, Bd. II, S. 662 und 667. Original nicht zugänglich.

[10]) Archiv f. experim. Path. u. Pharm., Bd. XXV, S. 225.

ciumhydroxyd und verbrannten die Destillationsproducte mit Kupferoxyd. Das Quecksilber wurde als solches oder (von O. Hassenstein) als Chlorür (nach Rose) gewogen.

2. Die quecksilberhaltige Substanz wird mit Salzsäure und Kaliumchlorat zerstört, im Filtrat das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff gefällt, der Niederschlag nach wiederholtem Auflösen mit Salzsäure und Kaliumchlorat und Wiederausfällen auf gewogenem Filter gesammelt und gewogen. (Bestimmung als Quecksilbersulfid.) Hierauf beruhen die Untersuchungen von Schneider, Riederer, Oskar Schmidt. Riederer wandte gleichzeitig die Dialyse an.

3. Das Quecksilber wird aus der mit Salzsäure angesäuerten Flüssigkeit oder aus der Flüssigkeit, welche aus den betr. thierischen Substanzen durch Zerstörung mit Salzsäure und Kaliumchlorat erhalten wurde, durch Zink, Kupfer oder Messing niedergeschlagen, aus den erhaltenen Amalgamen durch Erhitzen gewonnen und als solches gewogen. (Bestimmung durch Amalgamirung.) Der Grundgedanke dieser Methode ist wohl durch die von Schneider (a. a. O.) ausgebildete Electrolyse angeregt worden und zuerst durch E. Ludwig (a. a. O.) zur Ausführung gekommen.

Aus den Angaben dieses Autors über die Controlversuche ist, wie dies auch Hassenstein bemerkt, leider nicht zu entnehmen, ob diese Controlversuche mit Wasser, Harn oder einer durch Zerstörung mit Salzsäure und Kaliumchlorat erhaltenen Flüssigkeit vorgenommen wurden. O. Hassenstein hat die Anwendbarkeit des Verfahrens an nicht zerstörter Galle, Brasse und Winternitz am Menschenharn erprobt.

Um für die Beurtheilung der angeführten Methoden die nöthigen Anhaltspunkte zu bieten, gebe ich in der nachstehenden Tabelle eine Uebersicht der von den verschiedenen Autoren in den Controlversuchen erhaltenen Ergebnisse. Die Zahlen sind sämmtlich auf metallisches Quecksilber umgerechnet.

Art der Bestimmung.	Autor.	Untersuchungs-object.	Substanz-menge.	Menge des zugesetzten Quecksilbers.	Menge des erhaltenen Quecksilbers.	Absoluter Fehler.	Fehler in Procenten.
				gr.	gr.	gr.	gr.
Trockne Destillation.	Aug. Mayer	Harnrückstand	Von 1/2 Liter	0,0894	0,0886	— 0,0008	— 0,9
		»	»	0,0509	0,0506	— 0,0003	— 0,6
		»	»	0,0955	0,0953	— 0,0002	— 0,2
		»	»	0,3253	0,3241	— 0,0012	— 0,4
		Harn	1/2 Liter	0,0887	0,0879	— 0,0008	— 0,9
		»	»	0,0349	0,0336	— 0,0013	— 3,7
		»	»	0,0214	0,0209	— 0,0005	— 2.3
		»	»	0,0039	0,0035	— 0,0004	—10,3
Bestimmung als Quecksilbersulfid	Schneider	Harn	4 Liter	0,0738	0,0655	— 0,0083	—11,2
	Riederer	Blut	150 cbcm.	0,1469	0,1379	— 0,0090	— 6,1
		Blut	200 cbcm.	0,2103	0,2091	— 0,0012	— 0,6
		Blut	180 cbcm.	0,0114	0,0110	— 0,0004	— 3,5
		Muskel	70 gr.	0,0078	0,0072	— 0,0006	— 7,7
	Oskar Schmidt	Harn	3000 cbcm.	0,0369	0,0355	— 0,0014	— 3,8 [1])
Bestimmung durch Amalgamirung	E. Ludwig	?	?	0,04—0,24	—	—	— 0,4—1
	Hassenstein	Galle	20 cbcm.	0,0055	0,0058	+ 0,0003	+ 5,8
		»	»	0,0055	0,0052	— 0,0003	— 5,8
	Brasse	Harn	100 cbcm.	0,001	0,0009	— 0,0001	—10
	Winternitz	»	1000 cbcm.	0,0015	0,0015	0	0
		»	»	0,00369	0,00365	— 0,00004	1,1
		»	300 gr.	0,0037	0,0038	+ 0,0001	+ 2,7

[1]) Die betr. Angabe von O. Schmidt (a a O.) enthält einen Rechnungsfehler, indem 0,05 Sublimat 0,0428, nicht 0,0424 Quecksilbersulfid entsprechen.

Bei der Würdigung der vorstehenden Zahlen ist noch in Betracht zu ziehen, dass bei der Bestimmung als Quecksilbersulfid eine gegenseitige Compensation verschiedener Fehler nicht ausgeschlossen ist, da der bei der Zerstörung durch Salzsäure und Kaliumchlorat durch Verdampfen entstehende Verlust durch gleichzeitig ausfallende organische Substanzen, sowie durch entstehenden Schwefel theilweise aufgewogen werden kann. Ebenso kann eine Erhöhung des Quecksilbergewichtes bezw. Compensation von Verlusten bei der Amalgamirungsmethode statthaben, wenn Asbestfasern oder Glassplitter in die Vorlage gelangen und diese nach Trocknung und Wägung durch Salpetersäure, Wasser, Alkohol und Aether gereinigt wird, wie das durch O. Hassenstein ausgeführt wurde. Bei der Ausführungsweise von Brasse und Winternitz ist dies ausgeschlossen, indem bei Ersterem eine derartige Verunreinigung nicht möglich, bei Letzterem dieselbe den Glühverlust nicht erhöhen kann.

Die Bestimmungsmethoden von Brasse und Winternitz bilden Modificationen der von Fürbringer[1]) angegebenen Lamettaprobe. Durch die Untersuchungen von Wolff und Nega[2]), sowie von Welander[3]) ist festgestellt, dass durch Kupfer[4]) das Quecksilber aus dem Harn nicht vollständig abgeschieden wird, auch nicht nach Zerstörung desselben durch Salzsäure und Kaliumchlorat.

---

[1]) Berl. klin. Wochenschrift, 1878, S. 332.

[2]) Deutsche med. Wochenschrift, 1886, S. 272.

[3]) Citat aus Landsberg: Ueber die Ausscheidung des Quecksilbers aus dem Organismus, Inaug.-Diss., Breslau 1886. Original nicht zugänglich.

[4]) Auch bei der sog. Lametta dürfte hauptsächlich nur das Kupfer zur Geltung kommen, indem der äusserst dünne Zinküberzug wohl durch die Salzsäure rasch aufgelöst wird. Nach der Reduction im Wasserstoffstrome bietet die Substanz ganz das Aussehen des Kupfers. Vergl. Vulpius, Arch. f. Pharmaz. (3), Bd. XIV, S. 344. Anfangs hätten wir es hier mit der Wirkung einer Kupfer-Zinkkette zu thun. Vergl. Versuche von Gladstone und Triebe (Ann. f. Physik u. Chemie, Beiblätter 2 (1878) und 4 (1880).

Brasse[1]) verwendet nun so kleine Flüssigkeitsmengen, dass der hierdurch entstehende Fehler sehr wohl der Wägung entgehen kann, andererseits aber auch die Genauigkeit der Bestimmung durch die Kleinheit der erhaltenen Gewichtsmengen sehr beeinträchtigt wird. Dagegen scheint die Methode von Winternitz sehr wohl geeignet, die einzelnen Flüssigkeitstheilchen mit dem zu verquickenden Metalle in so nahe Berührung zu bringen und die Verquickung durch die beständige Bewegung der Flüssigkeit so zu begünstigen, dass eine vollständige Abscheidung des Quecksilbers bei vollster Anerkennung der von Wolff und Nega, sowie von Welander erhaltenen Resultate nicht undenkbar ist.

Deshalb und mit Rücksicht auf die angegebenen Nachtheile der übrigen Methoden habe ich mich entschlossen, das von Winternitz angegebene Verfahren zu verwenden bezw. vorher für meine Zwecke zu modificiren.

Das Verfahren ist folgendes: Mehrere Liter des zu untersuchenden Menschenharnes werden mit $^{1}/_{10}$ Volumen conc.

---

[1]) Die Methode von Brasse (a. a. O.) ist folgende: 100 cbcm. Harn werden mit 10 cbcm. Salzsäure versetzt, dann mit einem Streifen aus Messinggewebe von 1 cm. Breite und 50 cm. Länge, welcher vorher zu einem Cylinder von 1 cm. Höhe und Durchmesser aufgerollt, geglüht und mit Salzsäure gereinigt wurde, 12 Stunden bei 75—80° unter zeitweiligem Umrühren digerirt. Hiernach wird die Messingrolle mit Alkohol und Aether gereinigt, getrocknet (durch Stehen an der Luft), in einen Porzellantiegel gebracht und mit einer Schicht Mennige bedeckt. Der Tiegel wird durch einen concav geformten, gut passenden, vorher gewogenen Golddeckel verschlossen und, während die Höhlung des Deckels stets mit Wasser gefüllt ist, auf offener Flamme erhitzt. Nach dem ungefähr zwei Minuten dauernden Erhitzen wird der Deckel mit Alkohol und Aether gewaschen, getrocknet und gewogen. Die Gewichtszunahme des Golddeckels bezw. auch die Gewichtsabnahme desselben beim nachherigen Glühen giebt das Gewicht des erhaltenen Quecksilbers. Obwohl diese Methode wegen der kleinen Flüssigkeitsmenge und wohl auch wegen der Unvollkommenheit der Quecksilberausscheidung nicht als vollständig genau gelten kann, so wird sie doch bei Reihenuntersuchungen, bei welchen es mehr auf eine grosse Anzahl von Versuchen als auf vollkommene Genauigkeit des einzelnen Versuches ankommt, die besten Dienste leisten.

Salzsäure vermischt und nach 1 bis 2 Tagen filtrirt. Das Filtrat muss sodann durch Glasröhren fliessen, welche mit aufgerolltem Kupferdrahtnetz gefüllt sind, und zwar muss jeder Liter eine ca. 30 cm. hohe Kupferschicht zweimal durchfliessen. Die Schnelligkeit des Fliessens wird durch Glashähne in der Weise regulirt, dass aus dem schnabelförmig gekrümmten Ende eines jeden Rohres in der Minute ca. 50 Tropfen ausfliessen und die einmalige Durchströmung 24—48 Stunden in Anspruch nimmt[1]). Nach zweimaliger Durchströmung werden die Röhren mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen und im Luftstrom getrocknet. Dann kommen die Kupferrollen mit oder ohne die geradelaufenden Theile der Glasröhren in ein Bajonetterohr aus leicht schmelzbarem Glase unter Vorlage einer 4 cm. langen Schicht gekörnten Kupferoxyds und für den Fall, dass der Harn Jod enthalten hat, unter weiterer Vorlage einer Spirale aus Silberdraht. Alle Theile der Beschickung sind nach beiden Seiten durch Asbestpfröpfe abgeschlossen. Nach vollendeter Füllung wird das dem Bajonette entgegengesetzte Rohrende in eine 4 mm. weite, 20 cm. lange Capillare ausgezogen, welche an beiden Enden Erweiterungen trägt. In die äussere Erweiterung wird ein mässig fester Pfropf von 3—4 Blättern Blattgold eingeführt und hierauf dieselbe in eine Capillare ausgezogen.

Das Rohr wird hierauf in einen Verbrennungsofen so gelegt, dass die Capillare sich ausserhalb des Ofens befindet, durch eine Asbestplatte vor der Ofenwärme geschützt und passend gestützt ist, und das Bajonette mit einem Gasentwickler verbunden, welcher trockne und möglichst sauerstofffreie Kohlensäure liefert. Man leitet ca. $^1/_4$ Stunde lang diese Kohlensäure durch die Röhre, ermässigt sodann den Strom derselben auf 40 Blasen in der Minute und erhitzt die Kupferoxydschicht zur dunkeln Rothgluth, um dann die Erhitzung der Kupferrollen vom Bajonette aus zu beginnen und in

[1]) Wenn man auf den Cubikcentimeter 25 Tropfen rechnet, so würden in der Minute 2, in der Stunde 120, in 8 St. 20 M. 1000 cbcm. die Röhre durchfliessen. Es scheinen also beim Ausfliessen vorkommende Unregelmässigkeiten in Rechnung gezogen zu sein.

$^{1}/_{4}$–$^{3}/_{4}$ Stunden zu vollenden. Zuletzt wird die der Füllung zunächst gelegene Erweiterung der Capillare erhitzt. Nach Auslöschen der Flammen wird das Durchleiten von Kohlensäure noch ca. $^{1}/_{4}$ Stunde fortgesetzt, die Capillare abgesprengt, im trocknen Luftstrom getrocknet und gewogen. Nachdem durch Gleichbleiben des Gewichtes die vollendete Trocknung constatirt ist, wird die Capillare in einer schwer schmelzbaren Röhre unter Anwendung eines rascheren Kohlensäurestromes geglüht und nach Erkalten und halbstündigem Liegen an der Luft gewogen. Die Gewichtsabnahme giebt das Gewicht des in der untersuchten Harnmenge enthaltenen Quecksilbers.

Bei Verwendung dieser Untersuchungsmethode beim Hunde durfte zunächst nicht übersehen werden, dass sich der Hundeharn beim Zusatz von Salzsäure wesentlich anders verhält wie der Menschenharn. In letzterem bildet sich ein krystallinischer Niederschlag von Harnsäure, in ersterem ein solcher von Kynurensäure und Schwefel[1]), und bei der Verwandtschaft des Quecksilbers zum Schwefel, welche die der übrigen bekannteren Metalle übertrifft[2]), darf dieser Niederschlag bei der Bestimmung des Quecksilbers nicht ohne Weiteres vernachlässigt werden.

Die von mir gewählte Ausführungsweise des Winternitz'schen Verfahrens werde ich unten im Einzelnen beschreiben. Zunächst will ich über einige Vorversuche berichten, welche zwar hauptsächlich zur Einübung der nöthigen Manipulationen bestimmt waren, aber doch zu Ergebnissen führten, durch welche der weitere Verlauf dieser Untersuchung wesentlich beeinflusst wurde. Zu diesen Vorversuchen stand mir ein Hund zur Verfügung, welcher einige Tage vorher einige Gaben Quecksilberchlorür erhalten hatte, dessen Harn also möglicherweise Quecksilber enthalten konnte. Von diesem Harne wurde 1 Liter mit $^{1}/_{10}$ Volumen conc. Salzsäure versetzt und nach drei Tagen filtrirt. Hierbei wurde bemerkt,

[1]) Vergl. Drechsel, «Chemie der Absonderungen und Gewebe», in Hermann's Handbuch der Physiologie, Bd. V 1, S. 486.

[2]) Vergl. E. Schürmann, Ber. d. d. chem. Ges., 1889, Referate S. 129.

dass der Harn ausserordentlich schlecht filtrirte[1]), und erst nach mehrmaliger Filtration durch schwedisches Filtrirpapier konnte ich ein annähernd klares Filtrat erhalten. Dieses wurde durch eine Amalgamirungsröhre geschickt, hierauf sowohl das Filtrat wie der Filterrückstand mit den Filtern mit Salzsäure und Kaliumchlorat zerstört und die erhaltene filtrirte Flüssigkeit durch dieselbe Amalgamirungsröhre geschickt. Nach dem Ausglühen der gewaschenen und getrockneten Kupferrollen wurde in der Goldvorlage durch Behandlung mit Jod im Luftstrome ein spärlicher, aber deutlicher Quecksilberjodidbeschlag erhalten.

Weiter habe ich von diesem Harne einen Liter mit 2 cbcm. einer 1promilligen Sublimatlösung versetzt und auf dieselbe Weise behandelt mit dem Unterschiede, dass in diesem Falle das Filtrat und die durch Zerstörung des Filterrückstandes erhaltene Flüssigkeit durch 2 verschiedene Amalgamirungsröhren geschickt und diese einzeln geglüht wurden. Aus dem Filtrate wurden nur Spuren, aus dem Filterrückstande 0,0012 Quecksilber erhalten.

Mit Rücksicht auf dieses Ergebniss waren vorerst folgende Fragen zu beantworten:

1. Wie viel von dem dem Harne zugesetzten Quecksilber geht bei Behandlung mit Salzsäure in das Filtrat und wie viel in den Niederschlag über?
2. Wie gestaltet sich dieses Verhältniss bei dem Quecksilber, welches im Harne aus dem Organismus zur Ausscheidung gelangt?
3. Wie viel von dem dem Harne zugesetzten Quecksilber kann nach Zerstörung mit Salzsäure und Kaliumchlorat durch das Verfahren von Winternitz wiedergewonnen werden?

---

[1]) Auch als zunächst nur $^4/_{100}$ Volumen conc. Salzsäure, wie dies zur Ausfällung der Kynurensäure üblich ist, und nach der Filtration die übrige Salzsäuremenge zugesetzt wurde, war das Verhältniss nicht viel besser, indem sich das Filtrat nachträglich trübte. Dieselbe Beobachtung wurde von Schneider und Wolff und Nega bei dem mit Schwefelwasserstoff behandelten Menschenharn gemacht. (An den ang. Orten.)

Die von mir gewählte Versuchsweise umfasst sonach 2 Theile, die Zerstörung der organischen Substanzen und die Gewinnung des Quecksilbers aus der erhaltenen Flüssigkeit nach dem Verfahren von Winternitz.

1. Zerstörung der organischen Substanz.

Sowohl die zu diesen Versuchen verwendete Salzsäure wie das Kaliumchlorat wurde vorher auf Quecksilber untersucht mit negativem Resultate.

Zum Zweck der Zerstörung der organischen Substanzen bezw. auch des wahrscheinlich vorhandenen Quecksilbersulfids wurde so viel verdünnte Salzsäure (sp. G. 1,124) verwendet, dass diese $^1/_3$ des Gemisches betrug. Nur, wenn zum Nachspülen des Sammelgefässes viel Wasser verwendet werden musste, wurde weniger Salzsäure zugesetzt, dafür aber während der Zerstörung und der Verjagung des Chlors entsprechend weniger Wasser nachgegossen, als zur Erhaltung des ursprünglichen Volumens nöthig gewesen wäre. Die Zerstörung wurde durch geringeren Zusatz von Salzsäure wesentlich verzögert.

Bei Ausführung der Zerstörung wurde die mit Salzsäure vermischte Flüssigkeit oder die mit Wasser und Salzsäure übergossenen Filter mit den Rückständen auf dem Wasserbade erwärmt und hierauf in Pausen von ca. 15 Minuten je $^1/_2$—3 gr. Kaliumchlorat (nach der Menge der Flüssigkeit) unter zeitweiligem Umrühren so lange zugesetzt, bis ein starker und anhaltender Chlorgeruch auftrat. Ein irgendwie bedeutendes Schäumen der Flüssigkeit wurde nie beobachtet. Nach beendeter Zerstörung wurde die Flüssigkeit in den ersten Versuchen noch einige Stunden auf dem Wasserbade leicht erwärmt. Nachdem sich aber gezeigt hatte, dass hierdurch das Chlor nicht vollständig ausgetrieben wurde und ein, wenn auch geringer, Chlorgehalt der Flüssigkeit das Resultat der Untersuchung absolut unbrauchbar macht (Versuch 2), wurde die Flüssigkeit bei den ferneren Versuchen am folgenden Tage weitere 9 bis 10 Stunden auf dem Wasserbade bei gelinder

Wärme digerirt[1]). Die Temperatur des Harngemisches erreichte nur ausnahmsweise eine Temperatur von über 60—65° C. und wurde dann sofort erniedrigt.

Am folgenden Tage wurde filtrirt und der orangerothe spärliche Rückstand mit heissem Wasser durch dreimalige Decantation und darauf auf dem Filter bis zum Verschwinden der sauren Reaction ausgewaschen. Die saure Reaction verschwand, wie in einigen Fällen constatirt wurde, gleichzeitig mit der Chlorsilberreaction. Die Farbe des ohne vorherige weitere Behandlung zerstörten Harnes war die eines dunklen Weissweines (Marsala). Die Filterrückstände lieferten farblose oder grünlich gefärbte Filtrate.

In einzelnen Fällen wurde der nach der Zerstörung auf dem Filter bleibende Rückstand mit Salzsäure und Kaliumchlorat behandelt und das Filtrat auf Quecksilber untersucht.

2. Abscheidung des Quecksilbers aus den filtrirten Flüssigkeiten.

Der hierfür bestimmte Apparat wurde der von Winternitz (a. a. O.) gegebenen Beschreibung und Abbildung entsprechend zusammengestellt. Eine Aenderung habe ich insofern getroffen, als ich die Schnäbel der Amalgamirungsröhren durch Kautschuk mit den übrigen Theilen dieser Röhren verband, wodurch das Durchsaugen von Flüssigkeit erleichtert und eine mehrmalige Benutzung der Röhren ermöglicht wurde. Diese Röhren besassen eine Lichtung von 5—6 mm. Die Füllung wurde auf folgende Weise vorbereitet: Streifen vom feinsten Kupferdrahtnetz von 3,5—4,5 cm. Breite und gewöhnlich 15 cm. Länge wurden der Länge nach um ein Stück Messingdraht von 1,5 mm. Dicke als Kern festgerollt. Die Rollen waren dann so dick, dass sie die Röhre nicht ganz ausfüllten. Sie wurden behufs Entfernung organischer Substanz und vielleicht vorhandenen Quecksilbers in ein Ver-

---

[1]) Die Schwierigkeit, das Chlor vollständig zu entfernen, wird auch von Wolff und Nega (a. a. O.), sowie von Landsberg (a. a. O., S. 11) betont.

ennungsrohr gebracht, durch Erhitzen im Luftstrome ober-
ichlich oxydirt, dann im Wasserstoffstrome reducirt und in
r gut verschlossenen Röhre bis zur Verwendung aufbewahrt.
r der Füllung der Amalgamirungsröhren wurden die Rollen
it einer ausgeglühten Pincette so weit geöffnet, dass sie zum
weck des Einbringens in die Röhre etwas zusammengedrückt
erden mussten und sich so leicht federnd der Rohrwand
nau anlegten. In jede Röhre wurden zunächst so viel
upfernetzrollen eingeführt, dass die Gesammtlänge der letz-
eren 30 cm. betrug. In einzelnen Fällen hielt ich es für
weckmässig, diese Gesammtlänge durch Einschieben weiterer
ollen zu vergrössern. Nach geschehener Füllung wurden
ie Amalgamirungsröhren an den U-förmig gebogenen Enden
n senkrechter Stellung durch Kautschukschlauchstücke mit
benfalls senkrecht stehenden Glashahnröhren verbunden,
elche ihrerseits wieder nach oben durch ein Zweigrohr mit
inem Trichter verbunden waren. Der Trichter wurde durch
en Ring eines gewöhnlichen eisernen Statives getragen, die
enkrecht stehenden Röhren an Holzleisten festgebunden, die
n eine an demselben Stative angeschraubte Brennergabel
ngesteckt waren. Es wurde als zweckmässig, wenn auch
icht nothwendig, erkannt, dass die Ausflussöffnungen der
chnabelförmigen Rohrenden nur wenige Centimeter unter-
halb der Trichterspitze (Uebergang des Trichters in seine
Röhre) zu liegen kamen, weil hierdurch das Eindringen von
Luft in die oberste Kautschukverbindung vermieden wird.

Nach Zusammenstellung des Apparates wurde der Trichter
mit Wasser gefüllt und dieses so lange durch die Röhren
gesaugt, bis alle Luft aus denselben entfernt war, hierauf,
wenn nöthig, die Flüssigkeit durch Einblasen etwas zurück-
gedrängt, die Glashähne geschlossen und die schnabelförmigen
Rohrstücke an die oberen Enden der Amalgamirungsröhren
angesteckt. Nach Abfliessen des Wassers wurde verdünnte
Salzsäure (10 cbcm. conc. Salzsäure im Liter) durch die
Röhren geschickt, wodurch die Kupferrollen, welche sich
gewöhnlich bis dahin ein wenig oxydirt hatten, wieder ganz
blank wurden.

Sodann wurde mit dem Durchleiten der zu untersuchenden Flüssigkeit begonnen. Dieselbe befand sich in einer kurzhalsigen Flasche, welche ohne Verlust über den Trichter gestürzt und dort durch einen Ring des Gestelles festgehalten wurde.

Soferne die Flüssigkeit nicht ganz klar oder eine spätere Trübung zu erwarten war, wurde der Trichter vorher mit einem Papierfilter versehen.

Die Geschwindigkeit des Fliessens wurde durch die Glashähne so regulirt, dass jedenfalls weniger als 50 Tropfen in der Minute aus jedem Rohrende austraten. Diese Anzahl verminderte sich stets im Verlauf des Durchfliessens, wodurch wiederholte Regulation nothwendig wurde. Ein und dieselbe Flüssigkeit wurde meist 4mal durch die Röhren geschickt und auf den Liter eine Röhre gerechnet.

Meist waren zwei Apparate an einem Gestelle befestigt und jeder mit 1—3 Amalgamirungsröhren versehen.

Nach Beendigung der Amalgamirung, welche 3—4 Tage erforderte, wurden die Röhren so lange mit Wasser durchspült, bis das abfliessende Wasser nicht mehr sauer reagirte, wozu zwei Füllungen des Trichters nothwendig wurden. Dann wurde Weingeist und schliesslich Aether durch die Röhren geschickt; sodann die Amalgamirungsröhren nach Unterstellung einer Porzellanschale vom Apparate getrennt und jede 15—30 Minuten lang von trockner Luft durchströmt. Da das untere Ende der untersten Kupfernetzrolle immer mehr oder weniger zerbröckelt war, sammelten sich in der Biegung des Rohres Kupferdrahtstücke und schwarzes Pulver, welche möglichst vollständig mit Hülfe des in den Röhren und dann in der Porzellanschale befindlichen Aethers in diese Schale gespült und dann vom Aether durch Decantation und Trocknen befreit wurden. Es wurde darauf geachtet, dass bei der späteren Behandlung der Röhren nichts von diesen Abfällen verloren ging.

Die getrockneten Kupferrollen wurden über einem Bogen weissen Papiers mit Hülfe eines jedesmal vorher ausgeglühten

Messingdrahtes, welcher an einem Ende ein kleines spitzes Häkchen besass, aus den Röhren gezogen, und diese durch Aufstossen und Auskehren mit einer Federfahne vollständig entleert. Die Kupferrollen, sowie die in der Porzellanschale und auf dem Papier befindlichen Abfälle wurden mit Hülfe eines Kartenblattes und einer Federfahne in eine Bajonetteröhre aus leicht schmelzbarem Glase, in welche bereits vorher ein Asbestpfropf eingeführt war, gebracht. In der Porzellanschale und auf dem Papier blieb hin und wieder eine Spur des schwarzen Pulvers zurück, welche nicht entfernt werden konnte und wodurch möglicher Weise ein — jedenfalls geringer — Fehler bedingt wurde. Dieselbe war in Salzsäure zum grössten Theile mit grüner Farbe löslich. In einem Falle habe ich den aussergewöhnlich reichlichen Beschlag der Porzellanschale mit Salzsäure und Kaliumchlorat gelöst und bei Behandlung mit Messingwolle mit nachheriger Jodirung einen ganz schwachen, gerade noch sichtbaren Quecksilberjodidring erhalten.

In die mit dem amalgamirten Kupfer beschickte Bajonetteröhre wurde ein Asbestpfropf, dann eine 4—5 cm. lange Schicht gekörnten Kupferoxyds und wieder ein Asbestpfropf eingeführt. Sowohl das Kupferoxyd wie auch der Asbest wurde vorher im Luftstrom mindestens 30 Minuten geglüht. Die so gefüllte Röhre wurde hierauf am offenen Ende in eine Capillare von ca. 4 mm. Weite und ca. 20 cm. Länge ausgezogen, welche an beiden Enden Erweiterungen trug, in deren äussere 2—3 Blättchen Blattgold in Form eines losen Pfropfes eingeführt wurden, worauf das äusserste Ende in eine Capillare von ca. 3 cm. Länge und 1 mm. Weite ausgezogen wurde. Es gelang mir nicht, eine vollständig cylindrische Capillare zu erhalten. Dieselbe war durch das zwei- oder mehrmalige Ausziehen stellenweise ampullenförmig erweitert. Doch glaube ich, dass hierdurch die Genauigkeit der Versuche in keiner Weise beeinträchtigt wurde.

Behufs Trennung des Quecksilbers vom Kupfer wurde die Röhre bis über die am Anfang der Capillare befindliche Erweiterung in einen Verbrennungsofen gelegt, die Capillare

durch eine Asbestplatte geschützt und passend gestützt; dann $^3/_4$ Stunden lang ein Strom von trocknem Kohlendioxyd durch die Röhre geleitet. Nach Verlauf dieser Zeit wurde der Gasstrom auf 40 Blasen in der Minute ermässigt, die Kupferoxydschicht in beginnende Rothgluth gebracht, wozu $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden nothwendig waren, hierauf der übrige Theil der Röhre vom Bajonette an beginnend allmählich erhitzt und die höchste ohne zu starkes Erweichen der Röhre zulässige Hitze $^1/_2$ Stunde unterhalten. Vor dem Auslöschen der Flammen wurde das in der Erweiterung der Capillare (welche der Thonrinne des Ofens nicht unmittelbar auflag und daher weniger erwärmt wurde) enthaltene Quecksilber durch Erwärmen mit dem Bunsenbrenner nach vorn getrieben, nach dem Erkalten[1]) die Capillare abgesprengt und durch langsames gegen die Goldvorlage gerichtetes Durchleiten mit Schwefelsäure getrockneter Luft bis zum Constantbleiben des Gewichtes getrocknet. Die Constanz des Gewichtes war jedesmal in 3 Stunden erreicht, wurde aber immer controlirt. Nach der letzten Wägung wurde die Capillare mit Asbestpapier umhüllt, in eine Bajonetteröhre aus schwer schmelzbarem Glase eingeführt, wobei der Goldpfropf gegen das Bajonette gerichtet war, und in einem mässig raschen Strom trocknen Kohlendioxydes $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden geglüht. Die entweichenden Gase wurden durch einen Aspirator aufgenommen und nach aussen geführt. Nach dem Erkalten wurde einige Minuten lang Luft durch

---

[1]) Hierbei wurde wiederholt Springen der Röhre beobachtet, obwohl zuerst die Flammen verkleinert und erst nach einigen Minuten und nach vollständigem Auflegen der Ziegel (die während der Operation nur auf einer Seite aufgelegt waren) ausgelöscht wurden. Später wurden etwas weniger leicht schmelzbare Röhren (sogen. Wasserstandröhren) verwendet, bei welchen ein Springen zu dieser Zeit nicht eintrat, dagegen mitunter vorher beim Beginne des Ausziehens oder beim einfachen Liegen und in einigen Fällen beim Beginne des Erhitzens im Verbrennungsofen. Das Springen der Röhre beim Erkalten nach hinreichend langem Erhitzen dürfte wohl kaum wägbare Verluste bedingen, viel eher das wiederholte Umfüllen und besonders das Springen während des Erhitzens, wesshalb doch das leicht schmelzbare Glas vorzuziehen sein dürfte. Im Nachstehenden werden derartige Störungen stets erwähnt werden.

die Röhre gesaugt und die Capillare nach Abwischen und ¼ stündigem Liegen im Wagkasten gewogen. Die Wägungen wurden auf 0,2 mgr. genau ausgeführt.

Der zu den nachstehend beschriebenen Vorversuchen, mit Ausnahme des ersten, verwendete Harn stammte von einem 37,3 K. schweren, vollständig gesunden Versuchshunde, welcher mit Fleisch gefüttert wurde. Der Harn wurde wiederholt untersucht, war leicht getrübt (in dünner Schicht klar) und reagirte schwach sauer. Bei längerem Stehen bildete sich ein reichlicher graugelber, flockiger Niederschlag. Beim Kochen zeigte sich leichte Trübung, die auf Zusatz einiger Tropfen Salpetersäure verschwand. Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium erzeugte keine Veränderung; durch etwas Stickstoffdioxyd enthaltende Salpetersäure wurde Grünfärbung in verschiedener Intensität erhalten. 500 gr. des Harnes wurden nach Zerstörung durch Salzsäure und Kaliumchlorat mit ½ gr. im Wasserstoffstrome reducirter Messingwolle bei 61—63° C. über 20 Minuten digerirt. Die Messingwolle wurde nach Waschen mit Wasser, Alkohol und Aether getrocknet und in einem mit Capillare versehenen, von Kohlendioxyd langsam durchströmten Verbrennungsrohre erhitzt. Es wurde weder Quecksilber noch durch Jod Quecksilberjodid erhalten. Der Harn war demnach frei von Eiweiss und, wie zu erwarten, auch von Quecksilber, enthielt aber Gallefarbstoffe in wechselnder Menge.

Zu dem ersten Versuche wurde Harn von verschiedenen am hiesigen Thierspitale untergebrachten Hunden verwendet, welcher sich übrigens ebenso verhielt, wie oben angegeben.

Versuch 1. 1080 gr. Harn* (ca. 1 Liter) wird mit 10,5 cbcm. einer einprocentigen Lösung von reinem Sublimat versetzt (= 0,0775 Quecksilber). Am Tage darauf wurden 100 cbcm. conc. Salzsäure zugesetzt. Nach weiterem eintägigen Stehen wird durch ein doppeltes Filter aus schwedischem Filtrirpapier filtrirt, der Rückstand ausgewaschen, bis die saure Reaction des Waschwassers kaum mehr wahrnehmbar ist. Filtrat und Waschwasser werden zweimal durch zwei Amalgamirungsröhren geschickt. Die Kupferrollen sind nachher anscheinend blank, nur an einzelnen Stellen etwas dunkler gefärbt. Die aus ihnen erhaltene Quecksilbermenge beträgt 0,0066 gr.

Die Filterrückstände und Filter werden zerstört und nach der Zerstörung noch einige Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Filtrat und Waschwasser werden dreimal durch drei Amalgamirungsröhren geschickt, wobei die Flüssigkeit hellgrün gefärbt wird. Durch Erhitzen der Kupferrollen wird 0,0606 gr. Quecksilber erhalten.

Ergebniss:

Berechnet	0,0775	Quecksilber	
Gefunden im Filtrat . . .	0,0066	»	= 8,5 %
» im Rückstand .	0,0606	»	= 78,2 %
» im Ganzen . .	0,0672	Quecksilber	
Verlust .	0,0103	»	= 13,3 %.

Versuch 2. 500 cbcm. Harn werden mit 12,3 cbcm. der einprocentigen Sublimatlösung (= 0,0908 Quecksilber) versetzt, drei Tage nachher zerstört. dann am nächstfolgenden Tage filtrirt und ausgewaschen. Filtrat und Waschwasser werden einmal durch drei Amalgamirungsröhren geschickt und die dadurch smaragdgrün gefärbte Flüssigkeit noch zweimal durch zwei weitere Amalgamirungsröhren. Die Kupferrollen des ersten Röhrensystems sind der ganzen Ausdehnung nach, die des zweiten unten zerbröckelt. Sie liefern 0,0600 gr. Quecksilber. Das Verbrennungsrohr zeigt nach Entleerung auf der Innenseite einen gelblichen Beschlag, welcher beim Erhitzen an der Luft schwarz wird und sich in Salzsäure zu einer missfarbig grünen Flüssigkeit löst, welche auf Eisen Kupfer abscheidet. (Kupferchlorür.)

Ergebniss:

Berechnet	0,0908	Quecksilber	
Gefunden	0,0600	»	
Verlust .	0,0308	Quecksilber	= 33,9 %.

Versuch 3. Ein Liter Harn wird mit 0,2366 gr. Sublimat (= 0,1745 Quecksilber) versetzt, worauf sich am nächsten Tage ein schwarzer flockiger Niederschlag zeigt. Fünf Tage nach dem Sublimatzusatz wird der Harn zerstört, dann noch 5 Stunden und am nächsten Tage 9 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, worauf Chlor weder durch den Geruch noch durch Darüberhalten von befeuchtetem Jodkaliumstärkepapier nachzuweisen ist. Am folgenden Tage wird filtrirt, der Rückstand auf das Filter gespült, mit heisser 1promilliger Salzsäure und dann mit heissem Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction ausgewaschen. Filtrat mit Waschwasser wird viermal durch ein System von drei Amalgamirungsröhren geschickt und bleibt dunkelgelb gefärbt.

---

[1]) Es ist inzwischen ein schwarzer flockiger Niederschlag entstanden.

[Di]e sichtbar amalgamirten Kupferrollen liefern 0,1690 Quecksilber, welches [si]ch zum Theil in einer Erweiterung der Capillare zu einer rein spiegelnden [K]ugel vereinigt.

Der Filterrückstand wird mit den Filtern zerstört, das Filtrat mit [W]aschwasser liefert, wie sonst untersucht, 0,0004 gr. Quecksilber, dessen [I]dentität durch Behandlung mit Jod im Luftstrom nachgewiesen wird.

Ergebniss:

Berechnet	0,1745 Quecksilber	
Gefunden	0,1690 »	
Verlust .	0,0055 Quecksilber	= 3,2 %.

Der Filterrückstand enthält Spuren von Quecksilber, welche jedoch das Ergebniss nicht wesentlich beeinflussen.

Versuch 4. 1 Liter wird mit 0,3734 gr. Sublimat versetzt. Am nächsten Tage hat sich reichlich schwarzer Niederschlag gebildet, besonders auch an Stelle der oben schwimmenden Sublimattheilchen.

Bei Wiederholung des Versuches mit 0,1240 Sublimat zeigt sich ebenfalls ein spärlicher schwarzer Niederschlag.

Versuch 5. 1 Liter Harn wird mit 0,1560 gr. Sublimat (= 0,1151 Quecksilber) versetzt. Am nächsten Tage werden 100 cbcm. conc. Salzsäure zugesetzt. Es hatte sich bis dahin ein schwarzer flockiger Niederschlag gebildet. Nach weiteren fünf Tagen wird durch ein doppeltes Filter (aus schwedischem Filtrirpapier) filtrirt und zuerst ein ganz schwach opalisirendes, später ganz klares Filtrat erhalten. Die Flüssigkeit wird vom Niederschlage möglichst vollständig abgegossen, der letztere nicht ausgewaschen.

Das Filtrat wird dreimal durch eine Amalgamirungsröhre geschickt. Die Kupferrollen liefern 0,0090 gr. Quecksilber.

Der Niederschlag und die Filter werden zerstört, Filtrat und Waschwasser viermal durch drei Amalgamirungsröhren geschickt, wobei die ursprünglich vorhandene hellgrüne Färbung der Flüssigkeit kaum zunimmt. Die Kupferrollen liefern 0,0952 gr. Quecksilber.

Das bereits untersuchte Filtrat des nicht zerstörten Harnes wird zerstört, Filtrat mit Waschwasser viermal durch drei Amalgamirungsröhren geschickt. Die Kupferrollen liefern einen zarten, mittels der Loupe in Kügelchen auflösbaren Beschlag, der nach Behandlung mit Jod in einen reichlichen grellrothen Beschlag übergeht. Die Menge des erhaltenen Quecksilbers beträgt 0,0014 gr.

Der bei Zerstörung der Filterrückstände gebliebene Rückstand liefert, wie im Versuch 3 behandelt, kein mit Jod nachweisbares Quecksilber.

Ergebniss:

Berechnet	0,1151 Quecksilber			
Gefunden:				
im Filtrat vor der Zerstörung	0,0090	»	= 7,8 %	9,0 %
» » nach » »	0,0014	»	= 1,2 %	
im Niederschlag	0,0952	»	= 82,7 %	
im Ganzen	0,1056 Quecksilber			
Verlust .	0,0095	»	= 8,3 %.	

Versuch 6. 1 Liter Harn wird mit 0,0434 Sublimat (= 0,0320 Quecksilber) versetzt und neun Tage nachher zerstört. Nach erfolgter Zerstörung wird noch einige Stunden und am folgenden Tage weitere 9 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Filtrat mit Waschwasser wird viermal durch drei Amalgamirungsröhren geschickt. Durch Springen des Verbrennungsrohres im Beginn des Ausziehens der Capillare wird Umfüllen in ein neues Rohr nothwendig. Beim Erhitzen der Kupferrollen wird 0,0302 gr. Quecksilber erhalten. Der Rückstand liefert, wie im Versuch 3 untersucht, kein sichtbares, aber durch Behandlung mit Jod im langsamen Kohlendioxydstrom gerade noch erkennbares Quecksilber. Durch die Wägungen vor und nach dem Ausglühen der getrockneten Vorlage kann eine Gewichtsdifferenz nicht constatirt werden.

Ergebniss:

Berechnet	0,0320 Quecksilber
Gefunden	0,0302 »
Verlust .	0,0018 Quecksilber = 5,6 %.

Der bei der Zerstörung ungelöst gebliebene Rückstand enthält eine nur qualitativ nachweisbare Menge Quecksilber.

Versuch 7. 964,5 gr. (nahezu 1 Liter) Harn wird mit 0,0034 gr. Sublimat (= 0,0025 gr. Quecksilber) versetzt und sechs Tage später, nachdem sich ein zum Theil gelber, zum Theil schwarzer Niederschlag gebildet hatte, zerstört. Nach erfolgter Zerstörung wird noch einige Stunden, am folgenden Tage weitere 10 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Filtrat mit Waschwasser wird viermal durch zwei Amalgamirungsröhren geschickt, wobei eine Aenderung der hellbraunen Farbe nicht eintritt. Die Kupferrollen liefern 0,0024 gr. Quecksilber.

Ergebniss:

Berechnet	0,0025 Quecksilber
Gefunden	0,0024 »
Verlust .	0,0001 Quecksilber = 4 %.

Der Verlust befindet sich innerhalb der durch die Wägungen bedingten Fehlergrenzen.

Versuch 8. 1 Liter Hundeharn, welcher nach Verabreichung von Hydrargyrum salicylicum 0,0046 Quecksilber enthält (vergl. Hauptversuch 2), wird mit 100 cbcm. conc. Salzsäure versetzt und fünf Tage nachher filtrirt. Trotz wiederholter Filtration und $2^1/_2$ stündiger Centrifugirung mit der Soxhlet'schen Handcentrifuge wird kein klares Filtrat erhalten. Der Niederschlag wird schliesslich ausgewaschen, Filtrat mit Waschwasser viermal durch zwei Amalgamirungsröhren geschickt. Die Kupferrollen, welche unten etwas zerbröckelt sind, liefern 0,0010 gr. Quecksilber.

Der Niederschlag mit den Filtern wird zerstört, hierauf einige Stunden, am nächsten Tage $10^1/_2$ Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, Filtrat und Waschwasser viermal durch zwei Amalgamirungsröhren geschickt. Die Flüssigkeit ist nach dem zweiten Durchlaufen noch wasserhell, nach dem dritten schwach blaugrün, nach dem vierten dunkelblaugrün. Die Kupferrollen liefern 0,0032 gr. Quecksilber.

Das bereits untersuchte Filtrat wird zerstört, Filtrat mit Waschwasser zweimal durch eine Amalgamirungsröhre geschickt. Die Kupferrollen liefern kein sichtbares Quecksilber; durch Behandlung mit Jod wird ein deutlicher Beschlag von Quecksilberjodid erhalten. Die dem Quecksilber entsprechende Gewichtsdifferenz beträgt 0,0004 gr.

Ergebniss:

Aus dem vorigen Versuche berechnet	0,0046 Quecksilber			
Gefunden:				
im Filtrat vor der Zerstörung	0,0010	»	= 21,7 %	30,4 %
» » nach » »	0,0004	»	= 8,7 %	
im Niederschlag	0,0032	»	= 69,6 %	
im Ganzen	0,0046 Quecksilber.			

Versuch 9. Um über die Ursache der in den Versuchen 3 und 6 erlittenen Verluste ein begründetes Urtheil zu gewinnen, wurden 500 gr. Harn, welche von demselben Hunde vor der Behandlung mit Hydrargyrum salicylicum erhalten worden waren, mit 0,4364 gr. Sublimat (entsprechend 0,3221 Quecksilber) versetzt und, wie folgt, behandelt:

Nach erfolgter Zerstörung wird die Flüssigkeit noch ca. 24 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, das Filtrat mit Waschwasser zweimal durch eine Amalgamirungsröhre geschickt. Die Flüssigkeit lässt erst nach dem zweiten Durchlaufen einen schwachen Stich in's Grüne erkennen. Die Kupferrollen zeigen sich gar nicht zerbröckelt, dagegen in der ganzen Ausdehnung die Farbe ungleichmässig verändert, indem einzelne Stellen braunroth, andere schwarz, wieder andere silberähnlich gefärbt erscheinen. In der Porzellanschale findet sich eine spärliche Menge schwarzen Pulvers.

Die Kupferrollen liefern 0,2900 gr. Quecksilber in grossen, rein glänzenden Tropfen.

Die Flüssigkeit wird mit dem zum Nachspülen der Amalgamirungsröhre verwendeten Wasser zweimal durch eine weitere Amalgamirungsröhre geschickt, wonach die Flüssigkeit ziemlich dunkel gelbgrün gefärbt ist. Die untere Kupferrolle ist am unteren Ende wenig zerbröckelt. Beim Erhitzen des Kupfers wird 0,0260 gr. Quecksilber erhalten.

Dieselbe Operation wird zum dritten Male ausgeführt und 0,0030 gr. Quecksilber erhalten. Die Flüssigkeit zeigt nachher eine grüne Farbe mit einem schwachen Stich in's Gelbe. Die Kupferrollen sind stark zerbröckelt.

Bei der weiteren Wiederholung derselben Operation werden die Kupferrollen in der ganzen Ausdehnung missfarbig braun oder grau, die Flüssigkeit wird dunkelsmaragdgrün. Befeuchtetes Jodkaliumstärkepapier wird über die Flüssigkeit gehalten, nicht gebläut, wohl aber beim Benetzen mit derselben. Es wird kein sichtbares Quecksilber, aber ein sehr deutlicher Beschlag von Quecksilberjodid erhalten. Die dem Quecksilber entsprechende Gewichtsdifferenz beträgt 0,0004 gr.

Nachdem die Flüssigkeit ca. 17 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt worden, wird dieselbe von dem spärlichen schwarzen Niederschlage abfiltrirt und mit dem zum Auswaschen des Filters verwendeten Wasser durch eine weitere (fünfte) Amalgamirungsröhre geschickt. Schon $^3/_4$ Stunden nach dem Beginn des Durchleitens erscheint die untere Kupferrolle und der untere Theil der oberen missfarbig braun, welche Färbung sich bald auf die ganze Ausdehnung des Kupfers erstreckt. Die Flüssigkeit färbt sich im Beginn des Durchleitens grünlichbraun, welche Farbenänderung später nicht mehr beobachtet wird. Nach dem zweiten Durchlaufen ist die Flüssigkeit schwarzgrün. Es wird kein sichtbares Quecksilber, wohl aber deutliches Quecksilberjodid erhalten. Während der Jodirung erhält die Capillare einen Stoss, wesshalb ein Glasverlust wahrscheinlich ist. Die erhaltene, dem Quecksilber entsprechende Gewichtsdifferenz von 0,0012 ist zu gross. Der Jodidbeschlag war nicht stärker als bei der vierten Bestimmung.

Um von dem Grade, in welchem das Kupfer gelöst wurde, eine Vorstellung zu geben, sei Folgendes bemerkt: Die zu jeder Bestimmung verwendeten zwei Kupferrollen wogen vor der Verwendung gegen $8^1/_2$ gr., nach dem Erhitzen bei der ersten Bestimmung 8, bei der zweiten 7, bei der dritten $5^1/_2$, bei der vierten 3, bei der fünften 5 gr.

Nach der vierten Bestimmung ist im Verbrennungsrohre, ähnlich wie bei 2. Versuch, ein gelbbrauner Beschlag sichtbar, der sich an der Luft allmählich grün färbt (Kupferchlorür). Ebenso nach der fünften Bestimmung.

Ergebniss:

Berechnet	0,3221 Quecksilber		
Gefunden bei der 1. Bestimmung	0,2900	»	= 90,0 %
» » » 2. »	0,0260	»	= 8,1 %
» » » 3. »	0,0030	»	= 0,9 %
» » » 4. »	0,0004	»	= 0,1 %
» im Ganzen	0,3194 Quecksilber		= 99,1 %

Auch nach der vierten Bestimmung war die Flüssigkeit noch nicht frei von Quecksilber.

Aus den Versuchen 1, 5 und 8 geht hervor, dass nach der Behandlung von quecksilberhaltigem Hundeharn mit Salzsäure der grössere Theil des vorhandenen Quecksilbers (69,6—82,7 %) in dem Niederschlag, der kleinere (8,5—30,4 %) in der abfiltrirten Flüssigkeit sich vorfindet.

Hieraus ergiebt sich, dass das von Winternitz beschriebene Verfahren beim Hundeharn nicht ohne weitere Vorbereitung anzuwenden ist. Der bei den Versuchen 2, 3, 4, 5, 7 beobachtete schwarze Niederschlag gestattet die Vermuthung, dass schon vor dem Zusatz der Salzsäure ein Theil des Quecksilbers (als Schwefelquecksilber) sich ausscheidet, und hieraus ergiebt sich die Nothwendigkeit, den auf Quecksilber zu untersuchenden Hundeharn quantitativ aus den Sammelgefässen zu spülen.

Der im Versuche 1 erlittene verhältnissmässig hohe Verlust (13,3 %) dürfte durch mangelhafte Austreibung des Chlors, sowie durch unvollständige Abscheidung des Quecksilbers aus dem nicht zerstörten Filtrate bedingt sein.

Das unbrauchbare Ergebniss des Versuches 2 ist veranlasst durch die mangelhafte Austreibung des Chlors.

Bei den Versuchen 3, 6, 7 wurden von dem dem Harne zugesetzten Quecksilber 94,4—96,8 % wiedergefunden. Die dort angewendete Bestimmungsweise kann also nicht als «genau» gelten. Jedoch wird der Verlust bei der Kleinheit der im Harne vorkommenden Quecksilbermengen, soferne nicht sehr grosse Harnmengen zur Untersuchung gelangen, innerhalb die durch die Wägung bedingten Fehlergrenzen zu

liegen kommen (Versuche 7 und 8), wesshalb das Verfahren immerhin auf die Bezeichnung «brauchbar» wird Anspruch erheben können (vergl. Tabelle S. 5). Bezüglich der Ursache des Verlustes musste zunächst auffallen, dass bei bedeutender Verschiedenheit der absoluten Grösse desselben (0,0055, 0,0018, 0,0001) die durch Umrechnung in Procente erhaltenen Zahlen einander ziemlich nahe stehen (3,2—5,6 %). Anfangs glaubte ich, die Verflüchtigung von Sublimat beim Erhitzen auf dem Wasserbade als Ursache annehmen zu können, denn diese Verflüchtigung ist längst bekannt und die Versuche von A. Mayer[1]) liefern Anhaltspunkte für die Beurtheilung ihres Umfanges. Die von Winternitz erhaltenen genauen Resultate konnten diese Vermuthung nur unterstützen.

Dem gegenüber liefert der Versuch 9 den Beweis, dass die Abscheidung des Quecksilbers durch das Kupfer auch im Winternitz'schen Verfahren nicht, oder doch nicht unter allen Umständen vollständig ist. Bei der Kleinheit der von diesem Autor zugesetzten Quecksilbermengen ist es nicht undenkbar, dass beim Menschenharne dasselbe Verhältniss obwaltet, indem ein Verlust von 5 % hier einem absoluten Verluste von nur 0,1—0,2 mgr. entspricht.

Ausserdem bestätigt und ergänzt der Versuch 9 die bei früheren Versuchen gewonnene Erfahrung, dass nach vollständiger Austreibung des Chlors während des Amalgamirungsverfahrens die Flüssigkeit in zunehmendem Grade die Fähigkeit erhält, Kupfer zu lösen. Diesem Missstande kann auch durch wiederholtes Erwärmen auf dem Wasserbade nicht abgeholfen werden; er beruht nicht auf dem Vorhandensein von freiem Chlor, welches durch das Kupfer gebunden würde und auch durch Jodkaliumstärkepapier nicht nachgewiesen werden konnte.

Der bei diesem Versuche (9) nach der ersten Bestimmung noch gegebene verhältnissmässig grosse Verlust von 0,0321 gr.

---

[1]) A. a. O. Mit Salzsäure versetzte Sublimatlösungen auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, erlitten Verluste von 47,7—95,1 %, nach Zusatz von Natriumchlorid 4,7—11,8 %.

$= 10\%$ kann nicht auffallen, da für die Amalgamirung eine geringere Kupferfläche, sowie eine kürzere Zeit, also ungünstigere Verhältnisse wie in den Versuchen 3, 6 und 7 gegeben waren.

Um zu sehen, ob die unvollständige Abscheidung des Quecksilbers durch das Kupfer etwa in der chemischen Zusammensetzung des Harnes ihren Grund hat, habe ich folgende Versuche mit Hundekoth (schwarzer Fleischkoth) angestellt.

Versuch 10. 15 gr. Hundekoth werden mit 0,0492 gr. Sublimat (0,0363 gr. Quecksilber) versetzt und zerstört, die Flüssigkeit nachher noch 20 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Filtrat und Waschwasser wird viermal durch ein System von drei Amalgamirungsröhren geleitet, worauf die Kupferrollen 0,0340 gr. Quecksilber abgeben.

Ergebniss:	Berechnet . . .	0,0363
	Gefunden . . .	0,0340
	Verlust .	0,0023 = 6,3%.

Versuch 11. 50 gr. Hundekoth wird mit 0,0562 gr. Sublimat (0,0415 gr. Quecksilber) versetzt und wie beim vorigen Versuche verarbeitet, mit dem Unterschied, dass Filtrat und Waschwasser je zweimal durch drei getrennte Amalgamirungsröhren geleitet wurden. Das Kupfer der ersten Röhre lieferte 0,0366 gr., das der zweiten einige Milligramme (Wägung durch einen Glasverlust misslungen), das der dritten 0,0016 gr. Quecksilber.

Somit verhält sich die durch Zerstörung des Kothes erhaltene Flüssigkeit bezüglich der Abscheidung des Quecksilbers nicht wesentlich anders wie der zerstörte Harn, und ist die Unvollständigkeit dieser Abscheidung nicht durch die Zusammensetzung des Harnes bedingt, sondern darf wohl für alle durch Zerstörung thierischer Substanzen mit Salzsäure und Kaliumchlorat erhaltene Flüssigkeiten angenommen werden, wie dies schon durch die bereits erwähnten Angaben Welander's wahrscheinlich gemacht ist.

Hauptversuche.

Der verwendete Präparat wurde durch Vermittlung einer Münchener Firma von Dr. F. von Heyden Nachfolger, Radebeul bei Dresden, bezogen und war mit der Etiquette der letztgenannten Firma versehen.

Es ist ein rein weisses, feines, leicht verstaubendes, auf der Unte lage stark adhärirendes Pulver und reagirt schwach, aber deutlich saue Beim Verkosten hinterlässt es, anfangs geschmacklos, einen eigenthün lichen unangenehmen Nachgeschmack.

0,1 gr. des Präparates mit 5 cbcm. Wasser geschüttelt giebt m zwei Tropfen Eisenchloridlösung violette Färbung, 0,2 gr. im Glasröhrche erhitzt einen Beschlag aus Metallkügelchen, der mit Jod gelb, dann rot wird. Mit der zehnfachen Menge Natronlauge giebt das Präparat ein opalisirende, schwach graugelblich gefärbte Flüssigkeit. Der kaltbereitet wässrige Auszug (1 : 100) wird durch Schwefelwasserstoffwasser, Schwefel ammonium, Ammoniumoxalat, Bariumchlorid nicht verändert, durcl Silbernitrat kaum wahrnehmbar getrübt, welche Trübung durch Salpeter säure nicht beseitigt wird. 0,4958 gr. hinterlassen im Platintiegel erhitz 0,0002 gr. eines gelbbraunen eisenhaltigen Rückstandes. 1,1714 gr. er leiden 3 Tage über Schwefelsäure in luftverdünntem Raume aufgestell keinen Gewichtsverlust.

Der Quecksilbergehalt beträgt 56,9%. Es dürfte demnach das Präparat der Hauptsache nach aus secundärem (basischem) Salicylat bestehen, dabei aber auch freie Salicylsäure bezw. primäres Salicylat enthalten.

Zur Bestimmung des Quecksilbers wurden zuerst nach der Anweisung von Fischer[1]) 0,6764 bezw. 0,5294 gr. des Präparates mit Salpetersäure auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, der wässrige Auszug des Rückstandes mit Salzsäure versetzt und mit Schwefelwasserstoff gefällt. Die Menge des erhaltenen Quecksilbersulfides betrug 0,4422 bezw. 0,3466, was 56,36 bezw. 56,44% Quecksilber entspricht. Trotz dieser Uebereinstimmung der Resultate konnte ich denselben nicht vollständig vertrauen, weil bei der angewandten Methode die Verflüchtigung von Quecksilberchlorid nicht berücksichtigt ist. Desshalb habe ich die Quecksilberbestimmung weiter in folgender Weise ausgeführt: In ein Bajonetterohr aus leicht schmelzbarem Glase kam ein Asbestpfropf, eine 10 cm. lange Schicht gekörnten Kupferoxyds, dann in einem Porzellanschiffchen die Substanz, welche an Ort und Stelle mit feinkörnigem Kupferoxyd gemischt wurde, dann 20 cm. grobkörniges Kupferoxyd und 10 cm. metallisches Kupfergewebe. Hiernach wurde die Röhre wie sonst mit Goldvorlage versehen und die Füllung von beiden Enden her erhitzt. Das Kupferoxyd wurde in der Ausdehnung von ca. 11 cm. theilweise reducirt, das Quecksilber erschien in der Vorlage in grossen rein spiegelnden Tropfen.

Bei Verwendung von 0,4868 und 0,5730 gr. Substanz erhielt ich 0,2770 bezw. 0,3262 gr. Quecksilber, was 56,90 bezw. 56,93% entspricht.

---

[1]) «Die neueren Arzneimittel», 1889, S. 36.

Hauptversuch 1[1]). Eine Kuh, welche ihr Kalb säugt, erhält 1 gr. Hydrargyrum salicylicum in zwei Dosen. Der am Abend desselben Tages, sowie der in den nächsten vier Tagen erhaltene Harn, die während derselben Zeit gewonnene Milch, sowie der Harn des Kalbes wird mit Messingwolle auf Quecksilber untersucht, aber durchweg mit negativen Ergebnissen. Während derselben Zeit werden nahezu 10 Kilo Koth zurückgelegt und wie beschrieben auf Quecksilber untersucht, mit dem Unterschiede, dass nach der Zerstörung mit Kaliumchlorat colirt, die Colaturrückstände dann noch zweimal mit Wasser angerührt und ausgepresst wurden[2]). Es wurden 0,0562 gr. Quecksilber erhalten, also nahezu 10% der gegebenen Menge.

Bezüglich der Deutung dieser Ergebnisse ist zu bedenken, dass die im Kothe gefundene Quecksilbermenge nur einen Bruchtheil des im Kothe ausgeschiedenen Quecksilbers darstellt, denn abgesehen von der in den Rückständen zweifellos noch vorhandenen kleinen Quecksilbermenge wurde nicht die gesammte während der Versuchsdauer producirte Kothmenge untersucht, sondern etwa nur die Hälfte. Weiter ist nicht annehmbar, dass das in dem complicirten Magen-Darmkanal des Rindes eingeführte Quecksilber denselben in wenigen Tagen verlässt.

Kleine Quecksilbermengen im Kothe würden für die vorliegende Frage nichts beweisen, denn es wird resorbirtes Quecksilber z. Th. im Kothe ausgeschieden. Einzelne Beobachter haben sich sogar dafür ausgesprochen, dass von dem resorbirten Quecksilber mehr durch den Koth als durch den Harn ausgeschieden werde.

Jedoch ist Schuster[3]) durch weitere Versuche zu anderer Ansicht gekommen und aus den Angaben von

---

[1]) Dieser Versuch ist bereits im Jahresbericht der k. b. Centralthierarzneischule München für 1888/89 veröffentlicht, wesshalb ich mich hier auf kurze Angaben beschränke.

[2]) Das vollständige Auswaschen hätte viele Monate beansprucht.

[3]) Zeitschr. f. klin. Med., Bd. VII, 1883, S. 80, und Deutsche med. Wochenschr., 1884, S. 278.

Fr. Müller[1]) kann nicht entnommen werden, dass der Unterschied zwischen den im Harn und den im Koth gefundenen Quecksilbermengen ein sehr beträchtlicher war. Riederer (a. a. O.) fand bei seinem zweiten Versuchshunde in dem Kothe, welcher nach der Quecksilberverabreichung abgesetzt worden war, eine beträchtliche Menge Quecksilber, welche er aber, gewiss mit Recht, als nicht resorbirt betrachtet, um so mehr, als sie der Grösse nach der letzten Tagesdosis ziemlich genau entspricht, vorausgesetzt, dass täglich gleiche Mengen gegeben wurden. Desshalb halte ich die Annahme für berechtigt, dass die in unserem Falle im Kothe gefundene beträchtliche Quecksilbermenge zum grössten Theile der Resorption entgangen ist, dass also das Hydrargyrum salicylicum im Darmkanal des Rindes nicht oder nur unvollständig resorbirt wird. Dass von diesem Präparate nichts resorbirt wurde, ist jedoch durch die negativen Ergebnisse der Harnuntersuchung nicht bewiesen, weil dies durch Harnuntersuchungen überhaupt nicht bewiesen werden kann, auch wenn dieselben Wochen hindurch mit den empfindlichsten Proben ausgeführt werden, was für den vorliegenden Fall nicht zutrifft[2]).

Hauptversuch 2. Ein älterer männlicher, vollständig gesunder Hofhund von 37,3 Kilo Körpergewicht, bisher mit gekochtem Pferdefleisch gefüttert, erhält am 1. Versuchstage ein Futter, welches der Hauptsache nach aus Kalbsknochen besteht, am 2., 3. und 4. Versuchstage neben seinem gewöhnlichen Fleischfutter je 0,5 gr. Hydrarg. salicyl. in Fleisch eingelegt, am 5. Versuchstage wieder Knochenfutter, am 6. Fleisch. Am 7. Versuchstage Morgens wird der Hund durch Chloroform und nachfolgende Blutentziehung getödtet, das Blut mit ca. 50 gr. Verlust aufgefangen.

Vom 2. Versuchstage Morgens bis zum 7. Morgens wurde der Harn möglichst vollständig direct mit dem Glase auf-

---

[1]) Mittheil. d. med. Klinik zu Würzburg, Bd. II, 1886, S. 355.

[2]) Bezüglich der Empfindlichkeit der Lamettaprobe vergl. Wolff u. Nega, Deutsche med. Wochenschr., 1885, S. 847, und 1886, S. 256.

gefangen. Verluste konnten hierbei nicht ganz vermieden werden, zumal der Hund zweimal während der Nacht Harn abgesetzt hatte, welcher der Untersuchung entging. Dagegen ist eine Verunreinigung des Harnes durch (quecksilberhaltigen) Koth vollständig ausgeschlossen, auch habe ich mich bestrebt, die verloren gehenden Harnmengen der Grösse nach abzuschätzen. Sie betrugen zusammen ungefähr $^1/_2$ Liter.

Desgleichen wurde der im Verlaufe der Versuchstage abgesetzte Koth gesammelt. Da derselbe am 3. und 4. Versuchstage dickflüssig war und die Streu (Heu) durchtränkte, wurde diese in kleinen Partien genau durchmustert und die mit Koth beschmutzten Theile derselben zur Untersuchung aufgehoben. Hierbei wurde auch eine mässige Menge etwas fauler Fleischstücke aufgefunden. Nachdem die Möglichkeit, dass der Hund erbrochen, nicht ganz ausgeschlossen war, wurden auch diese Fleischstücke aufbewahrt.

Nach der Tödtung des Thieres wurde der in der Harnblase enthaltene Harn zu dem übrigen gefügt.

Die Gegenstände der chemischen Untersuchung waren folgende:

1. der Harn;
2. der dem quecksilberhaltigen Futter entsprechende Koth, also der erste Knochenkoth, der darauffolgende Fleischkoth mit einem kleinen Stück vom Anfang des zweiten Knochenkothes;
3. der dem späteren quecksilberfreien Futter entsprechende Koth bezw. Darminhalt, also der grösste Theil des zweiten Knochenkothes und der nach dem Tode gewonnene Darminhalt;
4. das in der Streu vorgefundene Fleisch;
5. das Blut;
6. Leber und Magendarm;
7. die Galle.

1. Untersuchung des Harnes. Der gesammelte Harn im Gewichte von 3,590 Kilo wurde mit dem gebildeten Niederschlag in eine Schale gegossen, hierauf 1 Liter = 1024 gr. unter beständigem Rühren

abgegossen und für den Versuch 8 zurückgestellt. Vom Reste wurden ca. 10 cbcm. zur Prüfung auf Eiweiss und Gallefarbstoffe verwendet. Der kaum merklich sauer reagirende Harn blieb beim Kochen und nachherigem Zusatz von Salpetersäure zunächst klar, um sich später zu trüben (Kynurensäure), Essigsäure und Ferrocyankalium erzeugten keine Aenderung, stickstoffdioxydhaltige Salpetersäure erzeugte starke Grünfärbung. Der Harn war also frei von Eiweiss, enthielt aber ziemlich reichlich Gallefarbstoffe.

Der Rest des Harns ($2^1/_2$ Liter) wird zerstört, am nächsten Tage noch 12 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Ungefähr $2^1/_2$ Liter des Filtrates werden viermal durch ein System von drei Amalgamirungsröhren geschickt, der Rest des Filtrates mit dem Waschwasser, ungefähr ebenso viel, durch dieselben mit je einer 15 cm. langen Kupferrolle verstärkten Röhren ebenfalls viermal. Nur der letztere Theil der Flüssigkeit wird hierbei gelbgrün gefärbt und desshalb für weitere Untersuchung zurückgestellt. Die Kupferrollen liefern 0,0110 gr. Quecksilber.

Der zurückgestellte Theil der bereits untersuchten Flüssigkeit wird zweimal durch eine Amalgamirungsröhre geschickt, wodurch die Flüssigkeit smaragdgrün gefärbt wird, die obere Kupferrolle sehr stark, die untere fast ganz zerbröckelt. Durch Springen des Verbrennungsrohres beim Ausziehen wird Umfüllen nothwendig. Die Reste der Kupferrollen liefern 0,0006 gr. Quecksilber, dessen Identität durch Jod nachgewiesen wird.

Der Rückstand des Harnes lässt, wie sonst untersucht, kein Quecksilber nachweisen. Der Harn enthält hiernach im Liter 0,0046 gr. Quecksilber, was mit dem im Versuch 8 erhaltenen Resultate übereinstimmt.

2. Untersuchung des dem quecksilberhaltigen Futter entsprehenden Kothes. Nachdem nach den bisherigen Erfahrungen anzunehmen war, dass das bei Zerstörung der thierischen Substanzen entstehende Quecksilberchlorid aus den Rückständen durch Auswaschen nicht ganz vollständig erhalten werden kann, und weil das Auswaschen des sehr voluminösen Heurückstandes, auf gewöhnliche Weise vorgenommen, die Beendigung der Untersuchung ausserordentlich verzögert hätte, hielt ich es für zweckmässig, vor der weiteren Verarbeitung den Koth möglichst vom Heu zu trennen. Desshalb wird das mit Koth beschmutzte Heu mit 4 Liter warmen Wassers anhaltend durchknetet, die Flüssigkeit abgegossen und dieses Verfahren mit einer geringeren Quantität Wasser wiederholt. Die abgegossenen Flüssigkeiten werden mit dem übrigen Kothe vereinigt, zerstört und nachher noch 10 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt.

Dasselbe geschieht in einer anderen Schale mit dem Heu. Der Rückstand des letzteren wird abcolirt und so oft mit heissem Wasser

angerührt und ausgepresst, bis dieses keine saure Reaction mehr annimmt. Die Colaturen, sowie die durch Zerstörung des Kothes erhaltene Flüssigkeit werden filtrirt, die Rückstände durch Decantation und dann auf dem Saugfilter mit heissem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgewaschen. Die Untersuchung der Flüssigkeit geschieht wie beim Harn. Es werden 15 Amalgamirungsröhren mit je 45 cm. hoher Kupferschicht gebraucht. Die Kupferrollen liefern 0,3796 gr. Quecksilber.

3. Die Untersuchung des dem späteren quecksilberfreien Futter entsprechenden Kothes bezw. Darminhaltes. Der Magendarmkanal wird durch Ligaturen in fusslange Stücke gelegt, diese einzeln entleert, auf einer Glasplatte ausgebreitet und durch einen Wasserstrahl unter gleichzeitigem Reiben abgespült. Darminhalt, Waschwasser und der grössere Rest des zweiten Knochenkothes werden zerstört, dann noch 26 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt.

Die weitere Untersuchung wird wie oben ausgeführt. Als mit dem Erhitzen des Kupferoxyds im Verbrennungsrohre begonnen war, springt dieses. Dasselbe wiederholt sich bei Verwendung eines weiteren Rohres. Die vorderen Enden der gesprungenen Rohre werden erhitzt, während ein Luftstrom gegen die Goldvorlage das Rohrstück durchstreicht. Die Goldvorlagen werden schliesslich mit dem Kupfer erhitzt und 0,0040 gr. Quecksilber erhalten. Obwohl bei der sehr geringen Veränderung des Kupfers eine grössere Quecksilbermenge nicht zu erwarten war, so sind kleinere Verluste nicht ausgeschlossen.

Die bei beiden Kothuntersuchungen bleibenden Rückstände im Gewichte von 375 gr. werden zerstört. Das erhaltene Filtrat liefert 0,0016 gr. Quecksilber. Nach dem Abtropfen des Filtrates bleibt auf dem Faltenfilter ein Rückstand von 382 gr.

4. Die Untersuchung des in der Streu vorgefundenen Fleisches (574 gr.) wird wie sonst ausgeführt und liefert 0,0106 gr. Quecksilber.

5. Die Untersuchung des Blutes (2 Kilo). Hier wurde dasselbe Verfahren ausgeführt mit folgender Aenderung: Der nach der Zerstörung bleibende Rückstand wurde 5mal mit heissem Wasser decantirt, dann auf dem Filter die Flüssigkeit vollständig abgesaugt und dieses Absaugen nach Uebergiessen mit heissem Wasser wiederholt. Um zu sehen, ob diese Art des Auswaschens genügt, wurde der letzte Liter des Waschwassers gesondert untersucht.

Als mit dem Erhitzen des dem Haupttheil der Flüssigkeit entsprechenden Kupfers begonnen wurde, springt die Verbrennungsröhre. Die Untersuchung kann desshalb nicht als quantitativ gelten. Die bei wiederholtem Erhitzen des Kupfers und der ersten Goldvorlage

erhaltene Quecksilbermenge von 0,0022 gr. ist jedenfalls zu klein, doch dürfte nach der Veränderung des Kupfers die wirkliche Menge 0,01 gr. nicht erreicht haben.

Der letzte Liter des Waschwassers liefert 0,0018 gr. Quecksilber.

Weiteres Auswaschen des 640 gr. wiegenden Rückstandes unterbleibt als zwecklos.

6. Die Untersuchung der Leber und des Magendarms (1600 gr.) liefert 0,0042 gr. Quecksilber.

7. Die Untersuchung der Galle (ungefähr 50 gr.), welche genau wie die zweite Kothuntersuchung durch zweimaliges Springen der Verbrennungsröhre (beim Erhitzen der Kupferoxydschicht) beeinträchtigt wird, liefert 0,0006 gr. Quecksilber, dessen Identität durch Jod festgestellt wird.

Ergebniss:

Gegeben Hydrarg. salicyl. 1,5 gr. = 0,8535 gr. Quecksilber.

Gefunden:

1. im Harn	0,0162	»	»
2. im dem quecksilberhaltigen Futter entsprechenden Kothe	0,3796	»	»
3. im späteren Kothe bezw. Darminhalt	0,0040	»	»
4. im Rückstand beider	0,0016	»	»
5. im in der Streu gefundenen Fleische	0,0106	»	»
6. im Blute	0,0040	»	»
7. in Magendarm und Leber . .	0,0042	»	»
8. in der Galle	0,0006	»	»

Bei Verwerthung dieser Zahlen ist zunächst zu erwägen, dass die Summe von 2, 4 und 5 den nicht resorbirten Theil des verabreichten Quecksilbers darstellt, gleichviel ob das in 5 aufgeführte Fleisch wirklich erbrochen oder, was wahrscheinlicher ist, mit diarrhoischem Kothe verunreinigt wurde. Diese Summe beträgt 0,3918. Es ist hiermit höchstens 0,4617 gr. Quecksilber resorbirt worden, also pro Kilo Körpergewicht 0,0124, wobei jedoch zu bedenken ist, dass die Art, auf welche der Koth gesammelt werden musste, trotz aller

Sorgfalt kleinere Verluste nicht ausschliesst. Diese Zahl an sich bietet nichts Auffälliges, indem bei den Versuchen Riederer's (a. a. O.) an 6 bezw. 5 Kilo schweren Hunden nach monatlicher Kalomelbehandlung Abgänge von ca. 0,5 gr. Quecksilber, also ungefähr 0,1 gr. pro Kilo, sich ergaben. Bei einem dieser Versuche wurde in 3,03 Kilo untersuchter Körpersubstanz 0,0297 gr. Quecksilber, also 0,0098 pro Kilo, gefunden.

Auffällig ist die geringe Menge des in der Leber gefundenen Quecksilbers, nachdem Riederer aus der nur 213 gr. schweren Leber desselben Versuchsthieres 0,0140 gr. Quecksilbersulfid (0,0121 Quecksilber) erhalten hat. Uebrigens hat V. Lehmann (a. a. O.) nach seiner Schätzungsmethode bei einem Kaninchen in der Leber einen geringeren Quecksilbergehalt (0,4 mgr.) gefunden wie in Herz und Lunge (1 mgr.), und auch von Schneider und O. Schmidt (a. d. a. O.) liegen Beobachtungen vor, nach welchen der Quecksilbergehalt der Nieren den der Leber übertrifft. Vielleicht verhält sich die Leber bezüglich der Aufnahme und Abgabe von Quecksilberverbindungen bei kurzdauernder Verabreichung anders als bei lang fortgesetzten, schliesslich vergiftenden Gaben. Dann war in Riederer's Versuche beim Tode des Thieres die letzte Quecksilbergabe noch im Darm, die Resorption also noch nicht beendet.

Dem geringen Quecksilbergehalt der Leber entspricht der der Galle, indem Hassenstein (a. a. O.) bei Kaninchen dieselbe Quecksilbermenge in viel geringeren Gallenmengen aufgefunden hat.

Die mit dem Harne ausgeschiedene Quecksilbermenge lässt sich mit Rücksicht auf die Verluste auf durchschnittlich 0,0001 gr. pro Tag und Kilo Körpergewicht veranschlagen.

Schlussbemerkungen.

Was zunächst die angewendete Methode betrifft, so kann zu ihren Gunsten angeführt werden, dass die Wägung des metallischen Quecksilbers in der Goldvorlage bei sehr kleinen

Mengen genauer sein muss, als die Wägung irgend welchen Niederschlages auf gewogenem Filter. Im Uebrigen ist die Methode sehr mühevoll und zeitraubend, ohne bei grösseren Quecksilbermengen genauer zu sein als die Fällungsmethode. Einen schwerwiegenden Missstand bildet das nicht seltene Springen der Verbrennungsröhren, das auch durch die grösste Sorgfalt nicht ganz sicher vermieden werden kann, vielleicht aber durch Auswahl einer bestimmten Glassorte.

Der für die quantitative Quecksilberbestimmung erforderliche Zeitaufwand ist indessen, abgesehen vom Harne, weniger durch die Art der Bestimmung als durch das Auswaschen der sehr voluminösen Rückstände bedingt und wird sich überhaupt nicht wesentlich reduciren lassen. Desshalb gewann ich die Ueberzeugung, dass quantitative Bestimmungen des Quecksilbers in thierischen Substanzen, abgesehen vom Harn, die darauf verwendete Mühe und Zeit nur dann lohnen, wenn man durch entsprechende Stalleinrichtung oder durch Verwendung der Ludwig'schen Schwebe im Stande ist, Koth und Harn gesondert und ohne Verluste zu sammeln, welche Bedingung ich in den vorliegenden Versuchen aus äusseren Gründen nicht erfüllen konnte.

In Bezug auf die Resorption des Hydrarg. salicyl. ergiebt sich aus dem Hauptversuch 2 im Einklang mit 1 ohne Weiteres, dass dieselbe eine unvollständige ist.

Es liegt nahe, das Hydrarg. salicyl. in dieser Hinsicht mit dem ihm bezüglich der Löslichkeit nahe stehenden Kalomel zu vergleichen. Leider ist das hierfür verfügliche Beobachtungsmaterial ein sehr spärliches.

Bei den mehrfach erwähnten Versuchen Riederer's ist im Verhältniss zur verabreichten Menge Quecksilber allerdings weniger, im Verhältniss zur Grösse der Thiere aber mehr resorbirt worden als bei meinem Hauptversuche 2. Abgesehen von der nicht sicher verwerthbaren grösseren Differenz zwischen der gegebenen und im Koth gefundenen Quecksilbermenge, war mehr Quecksilber in der Leber und, worauf ich am meisten Werth lege, mehr im Harn enthalten.

Bei einem Hunde (6 K.) wurde in dem Harn von 31 Tagen 0,0550 gr. Quecksilbersulfid (= 0,0474 gr. Quecksilber) gefunden, bei dem anderen (5 K.) in dem Harn von 29 Tagen 0,046 gr. Sulfid (= 0,0397 gr. Quecksilber). Hieraus berechnen sich pro Tag und Kilo Körpergewicht 0,00025 bezw. 0,0003 Quecksilber. Allein ein Vergleich dieser Zahlen mit den in meinem Hauptversuche 2 erhaltenen erregt Bedenken, weil bei Riederer's Hunden sehr lange Zeit hindurch das Präparat gegeben wurde und schliesslich Vergiftung eintrat, durch welche der eine zu Grunde ging, der andere in Lebensgefahr gerieth.

Wenn man die bei den Versuchen am Menschen erhaltenen Zahlen verwendet, so gestaltet sich das Verhältniss ganz ganz anders. Schneider (a. a. O.) hat bei Verabreichung von 25 Gran = 1,5625 gr. Kalomel in 12 Tagen 1,239 gr. Quecksilbersulfid (= 1,2577 Kalomel) im Kothe wiedergefunden, so dass also nur 0,3048 gr. resorbirt werden konnten, woraus sich, das Versuchsindividuum zu 70 Kilo gerechnet, pro Kilo 0,0037 Quecksilber ergibt. Im Harn wurde 0,029 Sulfid (= 0,025 Quecksilber), pro Tag und Kilo also 0,00003, gefunden.

O. Schmidt (a. a. O.) fand bei 47 Tage dauernder innerlicher Kalomelbehandlung, bei welcher Stomatitis auftrat, in der 5tägigen Harnmenge 0,0180 gr., nahezu 4 Wochen später 0,0287 Quecksilbersulfid, woraus sich wie oben pro Tag und Kilo Körpergewicht 0,00004 bezw. 0,00007 gr. Quecksilber berechnet.

Winternitz (a. a. O.) fand als höchste tägliche Ausscheidung bei einem 7jährigen Knaben im Verlauf einer forcirten Kalomelkur 0,0014 gr. Quecksilber, was etwa 0,00007 pro Kilo entsprechen dürfte; die übrigen bei innerlicher Kalomelbehandlung erhaltenen Zahlen sind durchweg kleiner.

Vergleicht man diese Zahlen mit der von mir im Hauptversuch 2 erhaltenen (0,0001 pro Tag und Kilo Körpergewicht) und berücksichtigt man, dass die von Oskar Schmidt und Winternitz gefundenen grösseren Quecksilbermengen erst nach längerer Kalomelbehandlung erhalten wurden und nach

den übereinstimmenden Erfahrungen beider Autoren der Quecksilbergehalt des Harnes mit der Dauer dieser Behandlung zunimmt, so wird der Schluss statthaft erscheinen, dass bei innerlicher Verabreichung von Hydrarg. salicyl. mehr Quecksilber resorbirt wird wie bei nichtgiftigen Gaben von Kalomel.

Somit bin ich in der Lage, die Resultate von Müller (a. a. O.) bezüglich der reichlichen Resorption des Hydrarg. salicyl. zu bestätigen. Nur bemerke ich, dass die bereits nach 36 Stunden erhaltenen negativen Ergebnisse der Harnuntersuchung nicht den Schluss gestatten, dass die Quecksilberausscheidung zu dieser Zeit bereits beendet war, da in meinem Falle nahezu 3 Tage nach dem Eingeben des letzten Pulvers noch Quecksilber im Blute und in den Baucheingeweiden zu finden war, dass ferner bei meinem Versuchshunde Störung des Allgemeinbefindens eintrat, die zwar nicht hochgradig, aber doch beträchtlich war und sich in Diarrhoe, verminderter Futteraufnahme und Vermehrung des Harnabsatzes kundgab. Die von mir angewendeten Gaben waren kleiner als bei den Müller'schen Versuchen (mit Rücksicht auf die Grösse der Versuchsthiere).

Indem ich mir vorbehalte, die bei den Versuchen beobachteten Erscheinungen und die hieraus für die Anwendung des Hydrarg. salicyl. in der Thierheilkunde sich ergebenden Schlussfolgerungen an anderer Stelle zu besprechen, glaube ich das Ergebniss meiner Versuche, wie folgt, aussprechen zu können:

Bei innerlicher Verabreichung von Hydrargyrum salicylicum ist die Resorption eine unvollständige, aber doch beträchtliche und wahrscheinlich reichlicher als bei nichtgiftigen Gaben von Kalomel.

Beiträge zur Kenntniss des Cholesterins.

Von

Kuno Obermüller in Berlin.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 2. August 1890.)

Von den im Thier- und Pflanzenreich vorkommenden Homologen und Isomeren des Cholesterins ist bisher nur das Isocholesterin genauer untersucht und durch scharfe Merkmale vom Cholesterin unterschieden. Weder die Formel des Cholesterins noch die eines andern Angehörigen dieser Körpergruppe kann als sichergestellt betrachtet werden, man hat z. B. für das Cholesterin die Formeln $C_{28}H_{44}O$ oder $C_{27}H_{46}O$ vorgeschlagen und es existirt kein zwingender Beweis für die Annahme einer derselben.

Diese mangelhafte Kenntniss der Cholesterine ist um so empfindlicher, da wir in ihnen Substanzen vor uns haben, welche zu den primären Bestandtheilen der Zelle gerechnet werden müssen und welche demgemäss die weiteste Verbreitung durch alle Gewebe zeigen.

Die Charakterisirung der einzelnen einander sehr ähnlichen Alkohole, die wir unter dem Namen der Cholesterine zusammenfassen, kann nur dadurch bewirkt werden, dass eine grössere Anzahl von Derivaten derselben dargestellt, in ihren Eigenschaften genau untersucht und unter einander verglichen werden.

Ich habe, von diesen Gesichtspunkten geleitet, auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. A. Kossel in der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts die Darstellung einiger

neuen Derivate dieser Alkohole unternommen und theile im Folgenden die ersten Ergebnisse, die sich auf das Cholesterin beziehen, mit.

Cholesterinkalium.

Die Darstellung dieser Verbindung ist analog der von Lindenmeyer[1]) und Reinitzer[2]) beschriebenen Darstellung von Cholesterinnatrium. Statt des von den früheren Autoren angewandten Steinöls benutzte ich zur Lösung des Cholesterins Aether, welcher sich für die Darstellung geeigneter erwies. Sobald das Kalium in die ätherische Lösung des Cholesterins hineingebracht wurde, erfolgte schon in der Kälte die Reaction mit grosser Heftigkeit unter energischer Wasserstoffentwickelung. Dieses Experiment genügt, um die Ansicht Walitzky's, nach welcher bei der Einwirkung von Natrium auf Cholesterin keine Wasserstoffentwickelung erfolgen solle, zu widerlegen, da nicht vorauszusetzen ist, dass die Einwirkung des Natriums in anderer Weise verlaufe. Das Cholesterinkalium gleicht in allen seinen Eigenschaften der entsprechenden Natriumverbindung. Die Zusammensetzung dieser Substanz wurde durch die Einwirkung von verdünnter Salzsäure auf eine abgewogene Menge der Kaliumverbindung ermittelt, es scheidet sich hierbei Cholesterin ab. Die vom Cholesterin abfiltrirte, das Kalium enthaltende Flüssigkeit wurde eingedampft und der Rückstand gewogen, das abgeschiedene Cholesterin wurde der Analyse unterworfen, ich fand auf diese Weise Folgendes:

Es lieferten:

	I.	II.
Substanz	0,2102	0,2201
K	0,0193	0,0201
CO_2	0,5970	0,6252
H_2O	0,2043	0,2124

	Berechnet in °/₀ für		Gefunden:	
	$C_{26}H_{43}OK$:	$C_{27}H_{45}OK$:	I.	II.
K	9,51	9,19	9,18	9,13
C	76,09	77,59	77,44	77,46
H	10,48	10,61	10,75	10,72

[1]) Journal für pract. Chemie, Bd. 90, S. 321.

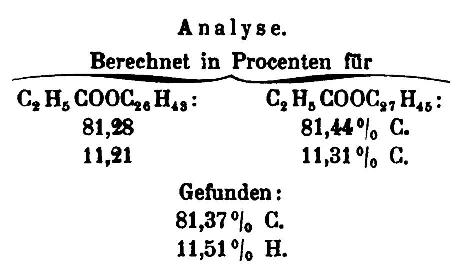
[2]) Monatshefte für Chemie, Bd. 9, S. 421.

Cholesterylpropionat. $C_{27}H_{45}COOC_2H_5$.

Diese Verbindung ist von besonderem Interesse, weil sie die von früheren Autoren bereits bemerkten Farbenerscheinungen beim Abkühlen der geschmolzenen Verbindung schöner zeigt, als irgend ein anderes Derivat des Cholesterins.

Die Darstellung dieser Substanz geschieht in folgender Weise:

Man mischt 10 gr. (bei 100°) gut getrocknetes Cholesterin mit etwa 5 gr. Propionsäureanhydrid in einem Rundkolben mit aufgesetztem Kühler und erhitzt das Gemisch auf dem Wasserbade eine halbe Stunde lang; es bildet sich bald eine weingelbe Lösung, aus welcher bei dem Erkalten eine weisse fettglänzende zähe Masse ausscheidet, die krystallinisches Gefüge besitzt. Aus ihrer ätherischen Lösung fällt nach Zusatz von Alkohol der Propionsäure-Ester des Cholesterins, zu ihrer vollständigen Reinigung wiederholt man die Ausfällung aus der ätherischen Lösung mehrmals. Die Verbindung krystallisirt in cholesterinartigen rhombischen Blättchen, die bei 98° schmelzen, sie ist leicht löslich in Aether, Benzol, Schwefelkohlenstoff, schwerer in Alkohol; am besten erhält man die Krystalle durch langsames Verdunsten einer ätheralkoholischen Lösung.



Analyse.

Berechnet in Procenten für

$C_2H_5COOC_{26}H_{43}$:	$C_2H_5COOC_{27}H_{45}$:
81,28	81,44 % C.
11,21	11,31 % C.

Gefunden:

81,37 % C.
11,51 % H.

Dieses Propionsäure-Cholesterin, wie ich es kurz bezeichnen will, zeigt nun geschmolzen bei seiner allmählichen Abkühlung ein prachtvolles Farbenspiel von ganz ausgezeichneter Schärfe, welches wohl im Stande ist, das Propionsäure-Anhydrid als brauchbares Reagens auf Cholesterin erscheinen zu lassen, um so mehr, als weder die Alkohole der fetten, noch der aromatischen Reihe, noch auch die Terpene, zu welchen allen

das Cholesterin eine Beziehung hat, auch nur annähernd ähnliche Erscheinungen zeigen; ausserdem kann der Versuch mit den geringsten Mengen von Cholesterin dargestellt werden (cf. unten).

Beim Propionat ist nun Folgendes zu beobachten: Die geschmolzene Verbindung wird beim Abkühlen zunächst violett, dann allmählich blau, grün, dunkelgrau, orange, carminroth und kupferroth. Die prachtvoll tiefblaue Farbe, sowie die grüne erhalten sich längere Zeit ungemein scharf. Bei plötzlichem Abkühlen der Schmelze entsteht die kupferrothe Farbe, welche ebenfalls längere Zeit anhält, die blaue Farbe kann lange Zeit in der Weise erhalten werden, dass man die in einem Kölbchen befindliche Substanz in eine auf 98° erwärmte Glycerinlösung taucht und so zum Schmelzen bringt, die andern Farben thun dies nicht. Man beobachtet die Erscheinungen im reflectirten Lichte am besten, im durchfallenden sind die Complementärfarben sichtbar. Bei der Betrachtung unter dem Mikroskop im durchfallenden Lichte treten folgende Vorgänge auf: Die geschmolzene Substanz ist zuerst bleigrau, dann blaugrau, hellblau und dabei in fortwährender Bewegung, plötzlich tritt ein Stillstand ein, es erscheinen Gruppen von sphäroidisch angeordneten Krystallen, welche bei gekreuzten Nicols ein schwarzes Kreuz haben, also aus radiär gestellten doppelbrechenden Krystallen bestehen. Die Masse geräth wieder in Bewegung, die Kreuze verschwinden, es entsteht eine weingelbe Farbe, gemischt mit rosaroth, dann eine violette, blaue, hellgrüne und dunkelgrüne, letztere verschwindet plötzlich und man sieht nun wieder sphärische Aggregate von doppelbrechenden Krystallen, welche bedeutend grösser sind als die ersten. Die beim Schmelzen der Cholesterinderivate aufretenden Farbenerscheinungen wurden von Lehmann[1]) genauer untersucht, aber es ist bisher nicht möglich gewesen, das Zustandekommen dieser Phänomene zu erklären. Leh-

[1]) Mitgetheilt in der oben citirten Arbeit von Reinitzer; siehe ferner Lehmann, Molecularphysik, Leipzig 1889, Bd. II, S. 586.

mann beobachtete am Acetat und Benzoat, dass diese Erscheinungen mit der Ausscheidung und Wiederauflösung einer bis jetzt unbekannten krystallisirten Substanz zusammenhängen, dasselbe geht auch aus obigen Untersuchungen am Propionat hervor. Beim Cholesterylacetat fand Lehmann drei Krystallformen, deren zwei monosymmetrisch sind, während die dritte nicht bestimmt werden konnte, auch das Benzoat existirt nach den Untersuchungen von Lehmann in drei Modificationen, deren erste die leicht zu beobachtenden tetragonalen Krystalle sind, die zweite Modification ist rhombisch, die dritte ist noch nicht bestimmt. Diese Modificationen stehen beim Benzoat zu einander im Verhältniss der Monotropie, beim Acetat sind sie zu einander zum Theil enantiotrop, zum Theil monotrop. Wie schon oben angeführt, lässt sich die Farbenerscheinung mit Hülfe sehr geringer Mengen von Cholesterin hervorrufen und kann desshalb zur Unterscheidung des Cholesterins von andern ähnlichen Substanzen benutzt werden.

Ausführung der Reaction.

Zur Ausführung der Reaction verfährt man folgendermassen: Man sucht das in einem Körper etwa vorhandene Cholesterin so gut wie möglich zu isoliren — das Cholesterin findet sich meist den Fetten beigemischt, welche zu seiner Isolirung verseift werden müssen, diese Verseifung wird am einfachsten nach dem von Kossel und mir im vorigen Heft dieser Zeitschrift beschriebenen Verfahren ausgeführt, wobei man das gesuchte Cholesterin nahezu rein erhält — ein ganz kleines Quantum der isolirten und völlig getrockneten Substanz wird in einem trocknen Reagensglas mit Propionsäure-Anhydrid (2—3 Tropfen) versetzt, das Gemenge vorsichtig über einer kleinen Flamme des Bunsenbrenners geschmolzen, es bildet sich bei raschem Erkalten die oben erwähnte fettglänzende Masse. Die Farbenerscheinung ist sehr deutlich zu beobachten, wenn man einige Körnchen dieser Masse an einem Glasstab bis zum Schmelzen erhitzt und den Stab dann

während des Abkühlens vor einem dunklen Hintergrund betrachtet[1]).

Cholesterylbenzoat. $C_{27}H_{45}C_7H_5O_2$.

Dieser Körper, welcher sich durch seine schönen tetragonalen Krystalle auszeichnet, wurde zuerst von Berthelot (Ann. d. chim., [3], Bd. 56, S. 54) durch Erhitzen mit Benzoesäure, später von Schulze (Journ. f. pr. Chem., [2], Bd. 7, S. 170) durch Erhitzen mit Benzoesäureanhydrid dargestellt. Ich wandte ebenfalls die letztere Darstellungsweise an und schmolz im Oelbade bei einer Temperatur von 160° Cholesterin mit überschüssigem Benzoesäureanhydrid zusammen. Bei dieser Darstellung fand ich jedoch, dass die Ueberführung in den Ester wenig vollständig war, 85°/₀ des angewandten Cholesterins gingen in Reaction ein und eine harzige kolophoniumartige Masse blieb zurück, welche durch Auskochen mittelst Aetheralkohol entfernt wurde. — Ich fand eine sehr bequeme Darstellungsweise dieses Körpers in der Einwirkung des Benzoylchlorids auf Cholesterin. Die Reaction verläuft fast quantitativ, wenn man in folgender Weise verfährt: Man erhitzt Cholesterin mit einem geringen Ueberschuss von Benzoylchlorid im Kölbchen auf 160°, nach wenigen Minuten ist der Benzoesäureester gebildet. Tafelförmig ausgebildete Krystalle erhält man durch langsames Verdunsten einer Lösung in Aether, die mit so viel Alkohol versetzt ist, als sie ohne Trübung ertragen kann.

Analyse.

I. 0,2103 gr. Substanz gaben 0,6416 gr. CO_2 und 0,1962 gr. H_2O.
II. 0,2203 gr. Substanz gaben 0,6732 gr. CO_2 und 0,2052 gr. H_2O.

---

[1]) Beim Cholesterylchlorid treten während des Erkaltens der geschmolzenen Verbindung dieselben Erscheinungen auf und hier hält sich die blaue fluorescirende Farbe mehrere Tage lang; ich machte ferner bei dieser Verbindung die Beobachtung, dass, wenn man ihre ziemlich concentrirte ätherische Lösung in einem Reagensglas durchschüttelt und die Lösung ausgiesst, das Reagensglas im auffallenden Licht eine schön blaue Färbung annimmt, welche sich längere Zeit erhält.

	Berechnet für		
	$C_{26}H_{43}C_7H_5O_2$:		$C_{27}H_{45}C_7H_5O_2$:
C	83,16	C	83,26
H	10,08	H	10,20
	Gefunden:		
	I.		II.
C	83,16	C	83,20
H	10,36	H	10,30

Mit Hülfe dieser Reaction konnte ich auch die Benzoesäure-Ester des Cholesterins und Isocholesterins aus dem Verseifungsproducte des Wollfettes gewinnen, welches nach dem von Kossel und mir beschriebenen Verfahren (im vorigen Heft dieser Zeitschrift) dargestellt ist. Ich fand die Krystalle genau in der von Schulze[1]) beschriebenen Weise vor. Die Substanz zeigt zwei Schmelzpunkte bei 145,5 und bei 178,5, sie giebt bei ihrem Erkalten aus dem Schmelzflusse die bekannten Farbenerscheinungen.

Phtalsäurecholesterin.

$$C_6H_4 < \begin{matrix} COOC_{27}H_{45} \\ COOC_{27}H_{45}. \end{matrix}$$

Diese Verbindung wird ebenso wie der Benzoesäure-Ester durch Zusammenschmelzen von Phtalsäureanhydrid mit wasserfreiem Cholesterin erhalten; man schmilzt beides bei 180° im Rundkolben. Die kolophoniumartige Schmelze wird in Aether gelöst, auf Zusatz von gewöhnlichem 95% Alkohol fällt eine weisse krümelige Masse nieder, welche in siedendem Aether gelöst wird, man filtrirt und setzt zum Filtrat einige Tropfen Alkohol, nach einiger Zeit scheiden sich tafelförmige Krystalle aus. Der Schmelzpunkt der Verbindung liegt bei 182,5°. Die Verbindung zeichnet sich durch ihre Schwerlöslichkeit in Aether aus, nur durch längere Einwirkung von siedendem Aether ist eine Lösung zu bewerkstelligen. Leicht löslich ist die Verbindung in Schwefelkohlenstoff und Chloroform. Eine bessere Ausbeute bei der Darstellung der Ver-

---

[1]) Journal f. pract. Chemie, [2], Bd. 7, S. 170.

bindung erhält man, wenn Cholesterin und Phtalsäureanhydrid in geschlossenem Rohr auf 180° erhitzt werden.

Analyse.

I. 0,2103 gr. Substanz gaben 0,6358 gr. CO_2 und 0,1989 gr. H_2O.
II. 0,2202 gr. Substanz gaben 0,6655 gr. CO_2 und 0,2079 gr. H_2O.

	Berechnet für		
	$C_6H_4 < \begin{matrix} COOC_{26}H_{43}: \\ COOC_{26}H_{43}: \end{matrix}$		$C_6H_4 < \begin{matrix} COOC_{27}H_{45}: \\ COOC_{27}H_{45}: \end{matrix}$
C	82,37	C	82,48
H	10,29	H	10,48

	Gefunden:	
	I.	II.
C	82,45	82,46
H	10,50	10,49

Benzyläther des Cholesterins.

$$\begin{matrix} C_6H_5CH_2 \\ C_{27}H_{45} \end{matrix} > O.$$

Ich erhielt diesen Aether durch 12stündiges Erhitzen von Cholesterinnatrium und Benzylchlorid in der geschlossenen Röhre bei 100°. Nach dem Oeffnen der Röhre wird der Inhalt mittelst Aetheralkohol ausgezogen und filtrirt; nach kurzer Zeit scheiden sich Krystalle ab. Die Krystalle sind knollig gruppirte dünne Blättchen, sie sind etwas milchig getrübt und schmelzen bei 78°.

Analyse.

I. 0,2301 gr. Substanz gaben 0,7230 gr. CO_2 und 0,2268 gr. H_2O.
II. 0,2202 gr. Substanz gaben 0,6915 gr. CO_2 und 0,0241 gr. H_2O.

	Berechnet für		
	$\begin{matrix} C_6H_5CH_2 \\ C_{26}H_{43} \end{matrix} > O:$		$\begin{matrix} C_6H_5CH_2 \\ C_{27}H_{45} \end{matrix} > O:$
C	85,34	C	85,71
H	10,84	H	10,92

	Gefunden:	
	I.	II.
C	85,67	85,64
H	10,95	10,97

Bromirte Ester des Cholesterins.

Beim Bromiren nachfolgender Ester des Cholesterins erhielt ich gut krystallisirte Verbindungen.

Bromcholesterylpropionat.

$C_{27}H_{45}Br_2C_3H_5O_2$.

Wie Wislicenus und Moldenhauer (Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 146, S. 178) zeigten, entsteht bei Einwirkung von in Schwefelkohlenstoff gelöstem Brom auf eine Lösung von ganz reinem Cholesterin, Cholesterindibromür $C_{27}H_{46}Br_2O$, ein Additionsproduct. Reinitzer (Wiener Monatshefte, 1888, Heft 5) stellte in derselben Weise das Bromadditionsproduct des Cholesterylacetats dar, ich habe die Reaction auch an dem Propionat und Benzoat ausgeführt.

Zur Darstellung des Bromcholesterylpropionat wird das trockene völlig reine Propionsäure-Cholesterin in wenig trockenem sehr reinem Schwefelkohlenstoff gelöst und unter Abkühlung durch kaltes Wasser so lange eine Auflösung von reinem (chlorfreiem) Brom in Schwefelkohlenstoff eingetragen, bis sich eine bleibende Gelbfärbung bemerkbar macht. Das Brom muss ganz langsam, und unter fortwährendem Umschütteln, zugesetzt werden. Es tritt Anfangs eine gelbe Farbe auf, welche aber beim Umschütteln wieder verschwindet, bis das Ende der Reaction erreicht ist. Während der Einwirkung bemerkte ich keine Entwickelung von Bromwasserstoff. Die braungelbe Flüssigkeit lässt man bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten, eine harzige spröde Masse bleibt zurück, welche fein zerrieben werden kann, man löst dieselbe in möglichst wenig Aether und fällt sie mit Alkohol aus, durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Aetheralkohol erhält man die Verbindung in grossen weissen quadratischen Blättchen. Schmelzpunkt 110°.

Die Darstellung dieser Bromverbindung ist, wie schon Reinitzer erkannte, zur Feststellung der Formel des Cholesterins zu verwenden, da das Verhältniss zwischen Kohlenstoff und Brom, besser als das zwischen Kohlenstoff und

Wasserstoff zur Feststellung der Atomzahl des Kohlenstoffes dienen kann; freilich sinkt der Werth der gewonnenen Verhältnisszahlen um so mehr, je grösser die an das Cholesterin angefügte Atomgruppe ist.

Zur Analyse dieser Verbindung verfuhr ich in folgender Weise:

Die über Schwefelsäure getrocknete Substanz löste ich in Aetheralkohol, setzte so viel Wasser hinzu, als sie ohne Trübung ertragen konnte, und trug Natriumamalgam ein; nach dem Eindampfen wurde mit siedendem Wasser ausgewaschen und in der wässerigen Lösung das Brom als Silberbromid bestimmt.

Eine zweite Brombestimmung machte ich in der Art, dass ich die Verbindung in rauchender Salpetersäure, welcher ich salpeters. Silber zusetzte, zerlegte und das gebildete Bromsilber bestimmte.

Analyse.

I. 0,3452 gr. Substanz lieferten 0,0917 gr. Br.
II. 0,2103 gr. Substanz lieferten 0,4605 gr. CO_2 und 0,1584 gr. H_2O.
III. 0,4623 gr. Substanz lieferten 0,1227 gr. Br.
IV. 0,2302 gr. Substanz lieferten 0,5038 gr. CO_2 und 0,1737 gr. H_2O.

Berechnet für

$C_{26}H_{43}Br_2C_3H_5O_2$:		$C_{27}H_{45}Br_2C_3H_5O_2$:	
C	59,18	C	59,80
H	8,16	H	8,30
Br	27,21	Br	26,57

Gefunden:

	I.	II.	III.	IV.
C	—	59,68	—	59,68
H	—	8,36	—	8,38
Br	26,56	—	26,54	—

Monobromcholesterylbenzoat.

$C_7H_4BrO_2C_{27}H_{45}$.

Diese in grossen seidenglänzenden Nadeln krystallisirende Verbindung wird ebenso erhalten wie das Brom-

cholesterylpropionat. Es ist aber nicht, wie dieses, ein Additionsproduct, sondern ein Substitutionsproduct. Man löst den Benzoesäure-Ester in Schwefelkohlenstoff und lässt unter starker Abkühlung langsam Brom, welches in Schwefelkohlenstoff gelöst ist, zufliessen, so lange bis die braungelbe Flüssigkeit beim Umschütteln nicht mehr entfärbt wird. Der Schwefelkohlenstoff wird verdunstet, das Ganze erstarrt zu einer harzartigen Masse von braunrother Farbe, welche beim Zerreiben verschwindet (Abgang von überschüssigem Brom). Die pulverisirte Substanz wird in Aether gelöst und aus Aetheralkohol umkrystallisirt. Wird die Verbindung in Aetheralkohl, dem man etwas Wasser zusetzt, mit Natriumamalgam behandelt, so erhält man kein Bromnatrium, bei längerem Kochen mit alkoholischer Kalilauge erhält man Bromkalium und benzoesaures Kalium. Die Verbindung ist sehr beständig, in die nicht leuchtende Bunsenflamme gebracht, verpufft sie. Nach dem Verhalten dieser Substanz ist anzunehmen, dass man es hier mit einem Substitutionsproduct zu thun hat, und die Analyse ergiebt, dass ein Monobromcholesterylbenzoat vosliegt. Ich führte zwei Brombestimmungen aus, die eine durch Zersetzung der Substanz im geschlossenen Rohr mit salpetersaurem Silber und Salpetersäure bei 120°, die andere durch Zerstörung mit rauchender Salpetersäure unter Zusatz von salpetersaurem Silber; beide Methoden lieferten dasselbe Resultat. Das letztere Verfahren habe ich schon bei vielen organischen Verbindungen angewandt und stets gute Resultate erhalten. Die Elementaranalyse wurde mit Kupferoxyd im Sauerstoffstrom unter Vorlage einer Silberspirale vorgenommen. Das Ergebniss der Analyse ist folgendes:

Analyse.

I. 0,3562 gr. Substanz lieferten 0,0501 gr. Br.

II. 0,2103 gr. Substanz lieferten 0,5526 gr. CO_2 und 0,1638 gr. H_2O.

III. 0,4721 gr. Substanz lieferten 0,0663 gr. Br.

IV. 0,2202 gr. Substanz lieferten 0,5786 gr. CO_2 und 0,1719 gr. H_2O.

	Berechnet für		
$C_7H_4BrO_2C_{26}H_{43}$:		$C_7H_4BrO_2C_{27}H_{45}$:	
C	71,35	C	71,70
H	8,46	H	8,61
Br	1441	Br	14,06

	Gefunden:			
	I.	II.	III.	IV.
C	—	71,65	—	71,66
H	—	8,65	—	8,67
Br	14,06	—	14,04	—

Der Schmelzpunkt der Verbindung liegt bei 136°, bei welcher Temperatur Bromdämpfe entweichen.

Ueber die Alkalescenz des durch Wirkung grosser Natrium sulphuricum-Gaben verdichteten Blutes.

Von

Jan Świątecki.

(Aus dem pharmakologischen Laboratorium des Kaiserlichen Universität zu Warschau.)

(Der Redaction zugegangen am 4. August 1890.)

Im Jahre 1850 machte zuerst C. Schmidt[1]) die Beobachtung, dass die Alkalescenz des Blutes bei Cholerakranken in der algiden Periode so bedeutend sinkt, dass das Blut manchmal sogar blaues Lakmuspapier roth färben kann. Diese Beobachtung ist darauf oft bestätigt worden; unter Anderen hat sie auch die unter Straus'[2]) Leitung stehende französische Commission während der Cholera in Aegypten 1883 bestätigt.

Es kam nun die Frage auf die Tagesordnung, ob die beobachtete Erscheinung nicht von den reichlichen Kothentleerungen abhängig sei, welche bei der genannten Krankheit Platz finden.

Mya und Tassinari[3]), welche die Alkalescenz des Blutes bei verschiedenen Krankheitsprocessen untersucht haben, studirten auch ihr Verhalten unter Einfluss von gewissen Abführmitteln (Inf. Sennae, MgO_2, Na_2SO_4); doch erhielten diese Forscher — soweit ich aus dem kurzen Referate in

[1]) Charakteristik d. epid. Cholera gegenüber verwandten Transsudationsanomalien, 1850.

[2]) Roux, Thuillier et Nocard, Exposé des recherches sur le choléra en Egypte. Comptes rendus de la Société de Biologie, 1883, p. 565.

[3]) Sulle variationi della reazione alcalina del sangue venoso in alcune malattie. Virchow's u. Hirsch's Jahresbericht, 1887, Bd. I, S. 232.

Virchow-Hirsch's Jahresbericht für 1887 urtheilen kann — keine positiven Ergebnisse.

Ich unternahm es auf Vorschlag des Herrn Professor L. J. Thumas, durch eine Reihe von Versuchen an Hunden festzustellen, welche Veränderungen in der Alkalescenz des durch grosse Glaubersalzgaben verdichteten Blutes eintreten, und in dieser Weise der Frage näher zu treten, ob auch in dieser Hinsicht eine Aehnlichkeit zwischen der experimentellen Oligaemia sicca und der bei Cholera sich entwickelnden existirt.

Diese Frage schien mir auch noch aus dem Grunde interessant, da die Theorie der Wirkung abführender Salze trotz tagtäglichem Gebrauche in der Praxis noch Vieles zu wünschen übrig lässt.

Bevor ich zur Beschreibung meiner Versuche trete, glaube ich noch einige Worte über die Methoden der Bestimmung der Blutalkalescenz sagen zu sollen und präcisiren zu müssen, was unter «Blutalkalescenz» zu verstehen sei.

Es ist bekannt, dass das Blut, wie Maly[1]) gezeigt hat, trotz seiner alkalischen Reaction eigentlich eine saure Flüssigkeit ist; sein Plasma enthält, ausser $NaHCO_3$, Na_2HPO_4 — theoretisch saurer, obgleich basisch auf Lakmus reagirender Salze, noch andere saure Verbindungen und, wie Maly behauptet, in grosser Quantität. Als Beispiel führt Maly NaH_2PO_4 an, welches im Blute aus Na_2HPO_4 unter dem Einflusse von CO_2, von Harnsäure und anderen Säuren entsteht. Dieser Forscher glaubt selbst, dass, im Allgemeinen, das Blut keine basischen Verbindungen enthält, und wenn man es alkalisch nennen kann, so darf dieses nur als Ausdruck seines Verhaltens gegen gewisse in der Chemie gebräuchliche farbige Reagentien gelten. Diese Eigenthümlichkeit verdankt das Blut den im Plasma gelösten $NaHCO_3$, Na_2HPO_4 und Natriumalbuminaten, in Gegenwart welcher Verbindungen die Blutsäuren zu schwach sind, um mittelst Farbenreactionen

---

[1]) Ueber das Basensäureverhältniss im Blutserum etc. Sitzungsberichte der k. Akademie der Wissenschaften, Wien 1882, Bd. LXXXV, Abth. III.

entdeckt zu werden. Daraus folgt, dass man bei Bestimmung der Alkalescenz des Blutes, d. h. der Quantität ihrer basischen Bestandtheile, auch die Säuren in Betracht ziehen muss, die negativ auf die Alkalescenz einwirken. Dementsprechend kann z. B. eine Steigerung der Blutalkalescenz auch, wenn die Quantität basischer Bestandtheile des Blutes verringert ist, stattfinden, wenn nur gleichzeitig die Quantität der im Plasma gelösten Säuren verringert ist.

Es könnte den Anschein haben, dass zur Bestimmung der Blutalkalien die in der analytischen Chemie gebräuchliche acidimetrische Methode vollständig genüge; doch schon der Umstand, dass dabei eine streng genommen saure Flüssigkeit mit einer Säure titrirt werden muss, erlaubt es nicht, zu den mit Hülfe dieser Methode erhaltenen Ergebnissen Vertrauen zu haben; ausserdem sind diese Ergebnisse auch von dem zur Bestimmung des Reactionsschlusses gebrauchten Farbstoffe abhängig, wie dies Maly (l. c.) für Lakmus und Phenolphthalein gezeigt hat.

Eine andere Methode der Bestimmung der Blutalkalescenz, zuerst von Walter[1]) angegeben, erlaubt es, über den grösseren oder geringeren Gehalt von Alkalien im Blute nach der CO_2-Quantität, welche aus dem Blute in die Toricelli'sche Leere ausgepumpt werden kann, zu urtheilen, und zwar auf Grund dessen, dass das CO_2 im Blute in lockerer chemischer Verbindung mit den Alkalien steht. Es liegt auf der Hand, dass auch diese «gasometrische» Methode nicht einwandsfrei ist, da wir ja Nichts über das Verhältniss zwischen der Quantität der Blutalkalien und der des daraus erhaltenen Gases wissen; es ist ja bekannt, dass ausser dem CO_2, das im Blute chemisch gebunden ist, auch das CO_2, welches zum Theil im Plasma einfach gelöst, zum Theil aber auch mit dem Hämoglobin der rothen Blutkörperchen verbunden ist [Zuntz[2])], in die

---

[1]) Untersuchungen über die Wirkung der Säuren auf den thierischen Organismus. Archiv für exper. Pathologie und Pharmakologie, VII. Bd., S. 148, 1877.

[2]) Berliner klinische Wochenschrift, No. 15, S. 185.

Toricelli'sche Leere übergeht; dabei lassen wir noch di Quantität des CO_2 unbeachtet, welche in die Leere in dem Maass übergeht, in welchem sie unter dem Einflusse der rothei Blutkörperchen (Pflüger) aus der Verbindung mit Natriun (Na_2CO_3) befreit wird. Genauere Angaben über diese Methodei finden sich bei H. Meyer[1]), Geppert[2]), v. Noorden[3]) O. v. Minkowski[4]).

Obgleich die letztbeschriebene Methode der Blutalka-lescenzbestimmung heutzutage schon öfter angewandt wird als die andere, dennoch habe ich der «acidimetrischen» der Vorzug gegeben, da in meinen Versuchen das Blut unter dem Einflusse des Glaubersalzes bedeutenden physikalischen Veränderungen unterlag: das Verhältniss zwischen den Blutkörperchen und dem Plasma in der Volumeinheit war bedeutend zu Gunsten der ersteren verändert, so dass bei Gebrauch der zweiten Methode ein Vergleich der Untersuchungsergebnisse nach Verdichtung des Blutes mit denen, die zur Controlle ausgeführt worden sind, unmöglich sein würde. Endlich wollte ich mich nebenbei auch überzeugen, ob das mittelst abführenden Salzen verdichtete Blut Lakmus röthen kann, damit meine Ergebnisse in Verbindung mit denen von C. Schmidt und Anderen über die Blutreaction bei Cholera beurtheilt werden könnten.

Da die Blutalkalescenz bekanntlich nach der Fibringerinnung sinkt [Pflüger und Zuntz[5])], so wollte ich Baldi[6]) nachahmen, der nicht das Blut in toto, sondern nur das Blutplasma titrirte. Um die daraus entspringende Ungenauigkeit

---

[1]) Studien über Alkalescenz des Blutes. Archiv f. exper. Pathologie und Pharmokologie, XVII. Bd., S. 304, 1883.

[2]) Gase des arteriellen Blutes im Fieber. Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. II, S. 355, 1882.

[3]) Magensaftreaktion und Blutalkalescenz. Archiv f. exper. Pathologie und Pharmakologie, Bd. XXII, 1887.

[4]) Ueber den Kohlensäuregehalt des arteriellen Blutes beim Fieber. Archiv f. exper. Pathologie und Pharmakologie, Bd. XIX, 1885.

[5]) Vergl. J. Steiner, Lehrbuch der Physiologie.

[6]) L'alcalinita del sangue e della saliva durante la digestione gastrica. Virchow's Jahresbericht, 1885.

zu beseitigen, haben Mya und Tassinari (l. c.) das Blut in 10% Glaubersalzlösung mit titrirter Oxalsäurelösung (1 cbcm. = 0,04 NaOH) neutralisirt. Zur Indication des Reactionsschlusses diente Lakmuspapier, auf welches von Zeit zu Zeit ein Tropfen der neutralisirten Flüssigkeit gebracht wurde. Jaksch[1]) dagegen wandte in seinen Versuchen die von Landois angegebene Methode an, die den Vorzug bietet, dass sie die Alkalescenz des Blutes fast augenblicklich nach dessen Austritt aus den Gefässen zu messen erlaubt; ich habe in meinen Versuchen ebenfalls die Methode von Landois in Anwendung gebracht.

Zu diesem Zwecke wurde eine Reihe von Probirgläsern bereitet, die verschiedene Quantitäten einer titrirten Säurelösung enthielten; es war somit im Voraus bekannt, welche Quantität einer Base (NaOH) zur Neutralisirung des Inhaltes jeden Probirglases nöthig ist. Wenn wir also in einem der Probirgläser nach Zusatz einer gewissen Quantität des untersuchten Blutes die Reaction neutral finden, so haben wir auch gleichzeitig die Alkalescenz des Blutes in Zahlenwerthen bestimmt. So z. B., wenn wir eine Reihe von Säure-Portionen haben, deren

	I[te]	mit	7,6	milligr.	NaOH	neutralisirt	wird,	
die	II[te]	»	6,8	»	»	»	»	
»	III[te]	»	6,4	»	»	»	»	u. s. w.
»	IX[te]	»	4,0	»	»	»	»	u. s. w.
»	XVII[te]	»	0,8	»	»	»	»	
»	XVIII[te]	»	0,4	»	»	»	»	

und nach Blutzusatz von 1 cbcm. wir in der IX[ten] die Reaction neutral finden, so ergiebt sich daraus, dass 1 cbcm. Blut die gleiche Quantität Säure neutralisirt, wie 4 milligr. NaOH, dass also 100 cbcm. des Blutes — 4 Milligramm NaOH entspricht, was kurz als Alk. = 400 formulirt werden kann. In meinen Versuchen wandte ich $^1/_{100}$ und $^1/_{200}$ normale Oxalsäurelösung an, die in 18 Probirgläsern derart vertheilt war, dass das

[1]) Ueber Alkalescenz des Blutes bei Krankheiten. Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. XIII, S. 350.

erste Probirglas 4,5 cbcm. einer $^{1}/_{100}$-Lösung enthielt, das zweite — 4,0 cbcm. einer $^{1}/_{100}$-Lösung und 0,5 cbcm. einer $^{1}/_{200}$-Lösung; das dritte 4,0 cbcm. der $^{1}/_{100}$-Lösung, das vierte 3,5 cbcm. der $^{1}/_{100}$- und 0,5 cbcm. der $^{1}/_{200}$-Lösung u. s. w., so dass eine Reihe von Portionen erhalten wurde, zu deren Neutralisirung der Reihe nach 3,6, 3,4, 3,2 u. s. w. milligr. NaOH erforderlich waren. Natürlich, in den Fällen, wo um die Hälfte kleinere Portionen genommen waren, wurde auch die Blutquantität um die Hälfte verringert, nämlich statt 1 cbcm. — 0,5 cbcm. auf jedes Probirglas. Dieses wurde zum Zwecke möglichst grosser Schonung des Blutes der Versuchsthiere gemacht, da der Verlust grösserer Blutquantitäten in unangenehmer Weise auf die Blutalkalescenz zurückwirken konnte

10 cbcm. des direct dem Blutgefässe entnommenen Blutes vermischte ich mit 90 cbcm. einer 10procentigen, völlig neutralen Lösung von Natr. sulphur. und goss in jedes Probirglas mittelst Pipette 5 cbcm. der Mischung, so dass jede Portion 0,5 cbcm. reinen Blutes enthielt. Nach möglichst genauer Mischung des Blutes mit der Säurelösung legte ich in jedes Probirglas je ein Stückchen rothes und blaues Lakmuspapier; ein Vergleich der Farbennuancen zeigte, in welchem Probirglase die Flüssigkeit eine neutrale Reaction angenommen hatte[1]). Als neutral nahm ich immer die erste basische Portion an, die den sauren folgte. Alle diese Proceduren waren mit grösster Geschwindigkeit ausgeführt, so dass von dem Moment der Blutentziehung bis zum Erhalten des endgültigen Ergebnisses nie mehr als zwei Minuten verflossen.

---

[1]) Es muss bemerkt werden, dass die mit Blut befeuchteten Stückchen von rothem und blauem Lakmuspapier an der Luft nach $^{1}/_{2}$—1 Minute eine gleiche braune Färbung erhalten, so dass es dann schon unmöglich ist, etwas über ihre ursprüngliche Färbung zu sagen. Diese Erscheinung kann wohl dadurch erklärt werden, dass wir hier eine dünne Blutschicht auf porösem Papier haben, also dieselben Bedingungen, unter welchen das Blutpigment sich leicht zerlegt und eine stark Sauerstoff bindende Substanz (Hämochromogen; Hoppe-Seyler) bildet, wobei sich Ozon ausscheidet, welchem die Zerlegung des Lakmus zugeschrieben werden muss.

Jetzt gehe ich zur genaueren Beschreibung der Versuche, die, wie schon bemerkt, an Hunden ausgeführt worden sind, über. Jedes Thier war 7—12 Tage vor dem eigentlichen Versuche im Laboratorium gehalten, wo es ca. 200 gr. Pferdefleisch und Wasser ad libitum täglich erhielt. Am Tage des Versuchs erhielt das Thier kein Futter mehr.

Versuch I. a) Bei einem jungen 9050 gr. wiegenden Hunde am 3./I. 1889 die Alkalescenz des Blutes in der linken Vena femoralis gemessen. Alk. = 360.

b) Den 9./I. 1889, als die Wunde schon mit gesunden Granulationen bedeckt war, wurde des Morgens dem Thiere mittelst Sonde 60,0 Natr. sulph. cristall. in 20% Lösung in den Magen eingeführt, worauf augenblicklich Erbrechen folgte. Um 2 und 4 Uhr Nachmittags wurden demselben Hunde wieder 60,0 Natr. sulph., ebenfalls in 20% Lösung, in zwei Portionen à 30,0 eingeführt. Kein Erbrechen, sondern nach einer gewissen Zeit reichliche Defäcation. Der Hund bleibt ohne Futter und Wasser.

10./I. 1889. Gewicht des Hundes = 8000 gr. Alk. des Blutes in der linken Femoralvene = 360. Somit hatte der Hund binnen 24 Stunden 1080 gr., d. h. 11,6% seines ursprünglichen Körpergewichtes verloren und die Blutalkalescenz ist scheinbar unverändert geblieben. Da aber der Gewichtsverlust noch kein Beweis vergrösserter Concentration des Blutes ist, so habe ich in allen folgenden Versuchen die Zahl der Blutkörperchen in 1 cbmm. nach Malassez' Methode berechnet.

Versuch II. a) Den 20. Januar 1889. Hündin. Gewicht 7869 gr.; Zahl der Blutkörperchen in 1 cbmm. Blut = 6,365000; Blutalkalescenz in der rechten Cruralvene gemessen = 360.

b) Es werden gleich nach dem Versuche mittelst Sonde in 3 Gaben zusammen 300 cbcm. einer Lösung, die 60,0 Na_2SO_4, 24 H_2O enthielt, in den Magen eingeführt. Abends und in der Nacht reichliche Defäcation. Am nächten Tage Gewicht des Thieres 6550 gr.; Zahl der Blutkörperchen in 1 cbmm. Blut = 7,240000. Alkalescenz des Blutes in der

linken Vena femoralis gemessen; Alk. = 400—360. Wir sehen also, dass, trotzdem das Thier circa 16% seines Körpergewichts verloren hat und die Verdichtung des Blutes zweifellos angewachsen war (Zahl der Blutkörperchen in 1 cbmm. um 13—14% gestiegen), die Alkalescenz des Blutes, wenngleich sie nicht gestiegen, doch auch nicht gesunken ist.

Da ich auf Grund gewisser theoretischer Erwägungen ein ganz anderes Resultat erwartete, so habe ich diesen Versuch noch zweimal wiederholt. Die Ergebnisse waren dieselben: die Alskalescenz des normalen wie des verdichteten Blutes war immer durch die Zahl 360 ausgedrückt. Die Protocolle dieser beiden Versuche, da sie dem Vorstehenden vollständig analog sind, will ich hier nicht anführen; bemerken will ich nur, dass die Blutkörperchenzahl im cbmm. nach Einnahme von Glaubersalz im ersten Falle um 13,5%, im zweiten um 11% die normale überstieg.

Versuch III. Den 3. Februar 1889. Gewicht des Hundes = 8470 gr.; Blutkörperchenzahl im cbmm. = 7,500000. Um 10 Uhr Morgens und um 3 Uhr Nachmittags à 30,0 Na_2SO_4, 24 H_2O in 150 cbcm. Wasser in den Magen eingeführt. Kein Erbrechen. Gewicht des Abends = 8150.

Den 4./2. Gewicht des Morgens 7700 gr. Zahl der Blutkörperchen im cbmm. = 8,152500. Um 12 Uhr in den Magen 30 gr. Glaubersalz in 150 cbcm. Wasser eingeführt. Am Abend nach gleicher Dosis — Erbrechen. Reichliche flüssige Fäces. Zahl der Blutkörperchen = 8,890000.

5./2. Gewicht = 7260. Blutkörperchenzahl = 9,035000. Thier sehr geschwächt, steht kaum (seit 3 Tagen weder gegessen noch getrunken). Alk. = 440 (in der linken Vena femoralis).

Das Thier hat also in 48 Stunden 14% des Körpergewichts verloren, die Zahl der Blutkörperchen im cbmm. ist um 20% gestiegen.

Um Verwundung des Thieres nach Möglichkeit zu vermeiden, da dieselbe auf die Versuchsergebnisse einen ungünstigen Einfluss ausüben könnte (Eiterung, Fieber etc.;

vergl. Jaksch, l. c.), habe ich in diesem Falle keinen Controllversuch angestellt; da jedoch bei allen Hunden, bei welchen ich Gelegenheit hatte, die Blutalkalescenz zu messen (über 10 Hunde), diese letztere nie 400 überstieg, gewöhnlich aber 360 betrug, so können wir wohl behaupten, dass nach Einführung von Glaubersalz die Alkalescenz des Blutes bei dem Versuchsthiere gestiegen ist. Dieses muss uns desto mehr überraschen, wenn wir bedenken, dass der Hund seit 3 Tagen gehungert hat; es haben ja Baldi's Versuche gezeigt, dass unter solchen Umständen die Blutalkalescenz zu sinken pflegt.

Um noch klarere Beweise zu erhalten, bemühte ich mich, das Blut ad maximum zu verdichten; bei Einführung von Glaubersalz per os gelang es mir doch nicht, eine bedeutendere Verdichtung als im Versuche III zu erzielen; denn, waren die Dosen vergrössert oder öfter verabreicht, so folgte nach 5—10 Minuten Erbrechen. Aus diesem Grunde ging ich in dem folgenden Versuche zur durch Maas[1]) verbesserten Wagner'schen[2]) Methode der Einführung des Glaubersalzes in die Peritonealhöhle über.

Versuch IV. Derselbe Hund wie im Versuche III — nach vollständiger Genesung. Den 27./2. 1889. a) Zahl der Blutkörperchen in 1 cbmm. Blut = 5,460000. Alk. = 400 der linken Art. femoralis.

b) Bald nach der Alkalescenzbestimmung um 10 Uhr 20 Min. des Morgens wurden unter antiseptischen Cautelen 60 gr. Glaubersalz in 200 gr. Wasser mittelst Spritze in die Peritonealhöhle eingeführt. Gleich nach der Operation — Erbrechen. Um 2 Uhr Nachmittags Zahl der Blutkörperchen im cbmm. Blut = 9,380000. Linke Art. femoralis herauspräparirt. Das dunkelbraun gefärbte Blut fliesst sehr schwer aus dem Blutgefässe. Alk. = 360. In diesem Falle war die Verdichtung eine ungewöhnlich grosse (70% über die Norm), die Alkalescenz ist dabei scheinbar gesunken. Gehen wir

---

[1]) Bericht über den 10. Chirurgencongress. Beilage zum Centralblatt für Chirurgie, 1881, No. 20, S. 5.

[2]) Langenbeck's Archiv, Bd. XX, S. 51.

doch in die Détails des Versuchsergebnisses tiefer ein, so kommen wir zu einer völlig verschiedenen Ueberzeugung.

In der That, bei der colossalen Blutverdichtung war die Quantität des zum Versuche verwandten Plasmas viel geringer als bei der Controllprobe. Folgende Berechnung kann diesen Satz bekräftigen. Acceptiren wir mit Hayem[1]), dass das Volumen eines Blutkörperchens, das beim Hunde 7 μ im Durchmesser hat, 0,000000057 cbmm. beträgt, so erhalten wir in 1 cbmm. normalen Blutes für unseren Fall:

0,000000057 · 5460000 = 0,3276 cbmm. für die Blutkörperchen,
1,0—0,3276 = 0,6724 cbmm. für das Plasma,

während im verdichteten Blute:

0,000000057 · 9380000 = 0,5346 cbmm. für die Blutkörperchen,
1,0—0,5346 = 0,4654 cbmm. für das Plasma.

Nehmen wir ferner an, dass nach der Verdichtung der Procentgehalt der Alkalien und Säuren im Blutplasma unverändert geblieben ist, so könnte man hoffen — da ja nicht 0,6724, sondern nur 0,3634 Theile zum Versuche angewandt worden sind —, dass diese Quantität nicht 400, sondern $\frac{4654 \cdot 400}{6728} = 275$ Säureeinheiten neutralisiren wird. Beim Versuche erhielten wir aber Alk. = 360; daraus folgt, dass das Blutplasma nach Verdichtung mehr Alkalien (resp. weniger Säuren) enthält, als in normalem Zustande.

Die schwache Seite dieser Berechnung ist die, dass wir Nichts über das Volumen der Blutkörperchen nach Blutverdichtung wissen; wäre es bei der Verdichtung vermindert, so müsste das Berechnungsergebniss weniger überzeugend sein. Wenn jedoch die Volumeinheit des verdichteten Blutes weniger Plasma enthält, als eine gleiche Einheit normalen Blutes, was augenscheinlich kaum zu bezweifeln ist, so müssen wir jedenfalls gestehen, dass in unserem Versuche die Alkalescenz nicht gesunken, sondern, wahrscheinlich, gestiegen ist, desto mehr, da sie nur einen kleinen Unterschied (360) im Vergleich mit der normalen (400) aufweist.

---

[1]) G. Hayem, Du sang etc. Paris 1889.

Betrachten wir nun von diesem Standpunkte aus die Ergebnisse aller unserer Versuche, so müssen wir zum Schlusse gelangen, dass die Alkalescenz des Blutes bei der von uns erzeugten Oligämie steigt.

Wie soll nun diese Erscheinung gedeutet werden? Auf den ersten Anblick hat es den Anschein, als ob sie in Widerspruch mit der längst bekannten Thatsache stünde, wonach die Quantität der anorganischen Substanzen (Salze) im Blute bei Verdichtung desselben mittelst abführenden Salzen abnimmt [vergl. unter Anderem J. Zawadzki[1])], wie dieses auch den Gesetzen der Osmose gemäss sein soll, da ja bekanntlich in diesem Falle eine Transsudation aus dem Blute in den Darm stattfindet [Poiseuille, Liebig, Kucharzewski[2])]. Wenn die Quantität von Salzen, resp. Verbindungen wie $NaHCO_3$, Na_2HPO_4 u. s. w., im Blute sinkt, so müsste wohl auch seine Alkalescenz sich in derselben Richtung modificiren. In der That aber verhält sich die Sache hier etwas anders. Den Gesetzen der Osmose gemäss muss aus der Mutterlösung, in unserem Fall aus dem Blute, in die concentrirte Na_2SO_4-Lösung Wasser mit Beimischung der in ihr gelösten Salze und Säuren übergehen; die Säuren müssen dabei in grösserer Quantität übergehen, da sie (z. B. $NaHPO_4$) leichter durch thierische Membranen diffundiren, als Basen (z. B. Na_2HPO_4) oder neutrale Verbindungen [Runeberg[3])]; auf Grund dieser Beobachtung hat ja bekanntlich Maly[4]) seine Theorie der Harnsecretion gebaut. Es ist also klar, dass, wenn das Blut mehr Säuren als Basen verliert, das Verhältniss im Plasma sich zu Gunsten letzterer gestalten muss — die Basen werden prävaliren und dementsprechend wird die Alkalescenz des Plasmas, also auch des Blutes, steigen.

Ich will dadurch durchaus nicht sagen, dass die von uns beobachtete Erscheinung ausschliesslich durch die Gesetze

---

[1]) Pamigtnik lekarski, 1889, Warschau; polnisch.

[2]) Gazeta lekarska, No. 5, 1889, Warschau; polnisch.

[3]) Archiv für Heilkunde, Bd. XVIII, S. 1.

[4]) Zeitschrift für physiologische Chemie, 1877, S. 174.

der Osmose regulirt wird — zweifelsohne können die veränderten Circulationsbedingungen, die Herabsetzung der Blutkörperchenernährung [Cohnheim[1])], also auch der Ernährung des ganzen Organismus, und noch viele andere Factoren ihren Einfluss auf die Veränderung der Blutalkalescenz geltend machen; obgleich wir somit «unbekannten Göttern» Opfer zu widmen nicht abgeneigt sind, können wir doch die Idee nicht verlassen, dass der Grund der Alkalescenzsteigerung nach Glaubersalz hauptsächlich in den Gesetzen der Osmose liegt. Wäre diese Hypothese auch nicht genügend motivirt, so durfte sie doch nicht verschwiegen werden, da sie viel Wahrscheinlichkeit für sich hat.

Gehen wir jetzt zu der Alkalescenzveränderung bei der Cholera über, so müssen wir hervorheben, dass hier der Verdichtungsprocess ein ganz anderer ist; denn, wenn wir dort über Transsudation sprechen konnten, so müssen wir hier eher schon über Exsudation sprechen, da der Boden, auf welchem dieses sich abspielt, in diesem Falle schon ein entzündlicher ist. Ohne in die Détails der Entstehung der Oligämie bei Cholera einzugehen, was nicht in dem Rahmen unseres Gegenstandes liegt, wollen wir nur bemerken, dass die Cholera eine fieberhafte, infectiöse Krankheit und darin schon die Ursache einer bedeutenden Alkalescenzsinkung des Blutes zu finden ist (Minkowski, Geppert, l. c.); ferner ist es möglich, dass unter dem Einflusse der Cholera-Ptomainen die Ernährung der Blutkörperchen, wie aller Körperzellen, mehr herabgesetzt wird, als bei der von uns künstlich erzeugten Oligämie, wodurch ihr Tod und dann eine Imbibition der Blutalkalien herbeigeführt wird. Es ist ja allgemein bekannt, dass das sterbende Protoplasma sehr energisch die Basen bindet (Minkowski, l. c.).

Zum Schlusse will ich mir noch die Bemerkung erlauben, dass man bei der Erklärung der Wirkungsart s. g. alkalischer Mineralwasser auf den Organismus im Allgemeinen, und speciell

[1]) Vorlesungen über allgemeine Pathologie, Bd. I.

auf das Blut, vollständig ausser Acht lässt, dass auch die Säuren den Gesetzen der Osmose unterworfen sind, in den Darmcanal diffundiren, und zwar in höherem Masse, als die alkalischen Salze. Die Annahme ist schon mehrmals gemacht worden, dass die Alkalescenz des Blutes unter dem Einfluss der Mineralwasser steigt; man erklärte diese Steigerung ausschliesslich durch Uebergang von basischen Salzen aus dem Darmtractus in's Blut und schrieb diesen Salzen die Function der Neutralisirung des Ueberschusses an Säuren im Organismus zu, um in dieser Weise ihre Wegschaffung durch die Nieren oder durch den Darmtractus bei Abführung zu erleichtern. Diese Erklärung könnte wohl für die Na_2CO_3-haltigen Wasser gelten, da dieses basische Salz sich leicht unter dem Einflusse von Säuren zerlegt, und die dabei frei werdende Kohlensäure bald durch die Lungen eliminirt wird; doch wie wäre die analoge Wirkung von neutralen Salzen, wie $NaCl$, Na_2SO_4, $MgSO_4$, zu erklären, Verbindungen, die sich schwer zerlegen lassen und ein hohes endosmotisches Aequivalent besitzen, was seinerseits eine bedeutende Transsudation von Salzen (Na_2CO_3 u. s. w.) aus dem Blutplasma nach sich zieht? Die Erklärung ist nur dann möglich, wenn wir annehmen, dass auch Säuren in den Darmtractus übergehen können, und zwar in höherem Grade als die Basen.

Résumiren wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen, so kommen wir zu folgenden Schlüssen:

1. Die Alkalescenz des Blutes steigt bei seiner Verdichtung mittelst grosser Glaubersalzgaben.

2. Diese Erscheinung kann durch die grössere Transsudation von Säuren als von Alkalien aus dem Blute in den Darmtractus erklärt werden, in Uebereinstimmung mit den Gesetzen der Osmose.

3. Der Versuch, die Blutalkalescenzsteigerung bei Gebrauch von Mineralwasser ausschliesslich durch Uebergang von basischen Salzen aus dem Darme in's Blut zu erklären, ist nicht befriedigend.

Ein Beitrag zur Kenntniss der Transfusion von Mischungen defibrinirten Blutes und Kochsalzlösungen.

Von

Dr. John Marshall.

(Der Redaction zugegangen am 18. August 1890.)

Vor Kurzem hat die Frage der Transfusion eine neue Gestaltung bekommen, indem man erstens versucht hat, die zu der Transfusion erforderliche Blutmenge durch den Zusatz von Kochsalzlösung zu vermindern, und zweitens durch den Versuch, einfach Kochsalzlösung bei der Transfusion anzuwenden.

Bergman schlug vor, die physiologische 0,6procentige Lösung von Chlornatrium allein zu verwenden. Es ist aber nicht leicht zu verstehen, was für einen anderen Zweck die Injection einer solchen Lösung haben könnte, ausser dem mechanischen die Blutgefässe zu füllen, da ja die respiratorischen Elemente in der Flüssigkeit fehlen.

Die in dieser Richtung vorgenommenen Versuche Landerer's versprechen weit mehr. Er gebrauchte zum Zweck der Transfusion Blut, bei welchem die Neigung zur Coagulation durch einen Zusatz einer 0,6procentigen, mit Kohlensäure gesättigten, Chlornatriumlösung gehindert war. Es wurden hiermit sehr günstige Resultate erhalten trotz der Gefahr, die anscheinend darin liegt, in den Kreislauf eine so grosse Menge von Kohlensäure einzuführen. Landerer's Experimente zeigten auch, dass es nicht nothwendig ist, dem System die ursprüngliche Anzahl von verlorenen Blut-

körperchen einzuverleiben, um das erwünschte Ziel zu erreichen.

Es könnte also nach Landerer der Verlust von zwei Liter Blut dadurch schadlos gemacht werden, dass in das Circulationssystem nur 400 cbcm. Blut gemischt mit 1600 cbcm. einer schwachen Chlornatriumlösung eingespritzt werden.

Bedenkt man, einen wie grossen Blutverlust der Organismus innerhalb bestimmter Grenzen aushalten kann, so leuchtet ein, dass ein an und für sich ungenügender Betrag von rothen Blutkörperchen genügen wird, um den augenblicklichen Mangel zu ersetzen, wenn nur das Gefässsystem zu gleicher Zeit völlig gefüllt ist, um auf diese Weise dem Organismus Zeit zu geben, den Blutverlust durch eine erhöhte Thätigkeit der Blut producirenden Processe auszugleichen. Doch bleibt es immer noch schwierig zu verstehen, was Landerer damit bezweckte, in den Kreislauf eine so grosse Quantität von Kohlensäure einzuführen, da diese ja eine zeitweilige Verminderung in der Vollkommenheit der respiratorischen Processe hervorrufen muss. Auch ist nicht leicht zu begreifen, warum Landerer so grosses Gewicht darauf legt, die Gerinnung zu verhindern, da erwiesen ist, dass vom Fibrin befreites Blut ebenso gut wirkt, wenigstens was die Respiration betrifft, als Blut, dem die Coagulationsfähigkeit durch entsprechende Mittel genommen ist.

Die Experimente von Landerer, Kronecker und Sander, und von Ott zeigen die bedeutenden Fortschritte, welche auf dem Gebiet der Transfusion von Blut und Kochsalzlösung erzielt worden ist. Die vorliegende Arbeit ist Fortsetzung der Arbeiten der ebenerwähnten Forscher.

In allen den angegebenen Experimenten wurde defibrinirtes Blut benutzt. Die Methode wurde in folgender Weise angewendet: Aus der Carotis eines Kaninchens, das durch Aether leicht betäubt war, wurde so lange Blut ausgelassen, bis durch Blutverlust hervorgebrachte Krämpfe eintraten. Gleich darauf wurde in die Jugularis eine dem verlorenen

Blute an Volumen gleiche Menge Flüssigkeit injicirt, die aus einem Volumen defibrinirten und filtrirten Blutes von demselben Kaninchen und 9 Volumen einer 0,6procentigen Chlornatriumlösung zusammengesetzt war.

Das Thier wurde vor und nach der Operation gewogen. Eine bisweilen beobachtete kleine Verschiedenheit des Gewichts vor und nach der Operation war dem durch Furcht bedingten Abgange von Fäces und Urin zuzuschreiben. In einigen Fällen wurden die Harnstoff- und Chlornatriummengen berechnet.

Der Procentgehalt an Oxyhämoglobin sowohl als die Zahl der im Cubikmillimeter enthaltenen rothen Blutkörperchen wurden vor und nach der Operation bestimmt. Gewöhnlich wurden zwei Bestimmungen von Oxyhämoglobin und der Blutkörperchenzahl gemacht, die eine am Tage vorher, die andere direct vor der Operation. Nach der Operation wurden diese Bestimmungen täglich oder innerhalb weniger Tage fortgesetzt, bis die Quantität von Oxyhämoglobin und die Zahl der Blutkörperchen ungefähr wieder gleich der vor der Operation geworden war.

Die Bestimmung des Oxyhämoglobins wurde mit dem Spectrophotometer von Hüfner in üblicher Weise und die Zählung der Blutkörperchen nach der Methode von Hayem ausgeführt. Die Resultate sind in den folgenden Tabellen übersichtlich angeordnet.

Kaninchen No. 1.

Gewicht vor der Operation . . . 2270 gr.
Vom Thiere entnommenes Blut . 38 cbcm.

Sofort nach der Operation wurden in die Jugularis 38 cbcm. einer Mischung von 1 Theil defibrinirten Kaninchenblutes und 9 Theilen einer 0,6procentigen Chlornatriumlösung injicirt.

Dauer der Transfusion 5 Minuten.
Gewicht nach der Transfusion 2240 gr. (Siehe Tabelle.)

Datum.	Blutkörperchen im Cubik-millimeter.	Oxyhämoglobin in Grammen in 100 cbcm. des Blutes.	Bemerkungen.
17. Juni	4 448 500	13,17570	Einen Tag vor der Operation.
18. »	4 557 000	13,41190	Unmittelbar vor d. Transfusion.
	Nach der	Operation:	
18. »	3 906 000	10,51394	5 Stunden nach d. Transfusion.
19. »	4 209 800	10,72585	Viele weisse Blutkörperchen.
21. »	4 234 600	10,84163	» » »
22. »	4 247 000	10,87100	» » »
24. »	4 278 000	10,92367	» » »
26. »	4 715 100	11,08483	» » »
29. »	5 409 500	11,08951	» » »
2. Juli	5 403 300	11,17456	» » »
5. »	5 989 200	11,85818	» » »
8. »	6 200 000	12,19229	» » »
11. »	6 671 200	13,24324	» » »

Am 12. Juli wurde das Thier getödtet. Bei der Autopsie wurde nichts Abnormes entdeckt.

Das Auffallendste bei diesem Versuch war der Verlauf der Regeneration. Es ist bemerkenswerth, dass die Zahl der Blutkörperchen vollständig regenerirt war im Laufe einer Woche, während 23 Tage vergingen, bis der Procentgehalt an Oxyhämoglobin denselben Betrag wie vor der Operation erreicht hatte, in welcher Zeit die Zahl der Blutkörperchen sich beträchtlich über die vor der Operation vorhandene vermehrt hatte. Dieselbe Beziehung wurde mehr oder weniger constant bei allen folgenden Experimenten beobachtet.

Kaninchen No. 2 (Weibchen).

Gewicht vor der Operation . . . 2700 gr.
Vom Thier entnommenes Blut . . 62,0 cbcm.

62,0 cbcm. einer Mischung aus 1 Theil defibrinirten Kaninchenblut und 9 Theilen einer 0,6 procentigen Chlornatriumlösung wurden in die Jugularis injicirt.

Dauer der Transfusion 5 Minuten.

Gewicht nach der Transfusion 2,40 Kilo.

Das Thier warf 4 Junge, als die Transfusion gerade beendet war.

Datum.	Blutkörperchen im Cubik-millimeter.	Oxyhämoglobin in Grammen in 100 cbcm. des Blutes.	Bemerkungen.
23. Juni	5 673 000	11,56703	Einen Tag vor der Operation.
24. »	5 567 000	11,62356	Unmittelbar vor der Operation.
	Nach der	Operation:	
26. »	4 225 300	8,38036	3 Stunden nach d. Transfusion.
26. »	4 408 200	8,68660	Viele weisse Körperchen.
2. Juli	4 588 000	10,67609	» » »
5. »	5 654 400	11,00593	» » »
8. »	6 203 100	13,00044	» » »
11. »	6 271 300	13,27644	» » »

Das Thier wurde am 12. Juli getödtet. Bei der Oeffnung wurde nichts Abnormes gefunden.

Kaninchen No. 3 (Weibchen).

Gewicht vor der Operation . . . 2540 gr.
Vom Thier entnommenes Blut . . 45 cbcm.

45 cbcm. einer Mischung aus 1 Theil defibrinirten Kaninchenblut und 9 Theilen einer 0,6procentigen Chlornatriumlösung werden unmittelbar darauf in die Jugularis injicirt. Dauer der Transfusion 5 Minuten. Gewicht unmittelbar nach der Operation 2500 gr. Während des Verlaufs dieses Versuchs wurde das Thier täglich gewogen und zu gleicher Zeit die Körpertemperatur beobachtet.

Im 24stündigen Urin wurden Bestimmungen von Harnstoff und Chlornatrium gemacht. (Siehe Tabelle.)

Datum.	Gewicht in Gramm.	Temperatur nach Celsius.	Harnstoff in Gramm.	Chlornatrium in Gramm.	Blutkörperchen im Cubikmillimeter.	Oxyhämoglobin in Grammen in 100 cbcm. Blut.	Bemerkungen.
25. Juni	2400	39,8°	—	—	5 828 000	13,26878	1 Tag vor der Operation.
26. »	2540	39,9°	—	—	5 859 000	12,90629	Unmittelbar vor d. Transfusion.
			Nach der Operation:				
27. »	2450	38,85°	2,52	0,59	4 064 100	9,17693	4 Stunden nach der Transfusion.
28. »	2450	39,2°	1,55	0,70	—	—	
29. »	2450	40,1°	1,43	0,66	—	—	
30. »	2450	39,7°	2,76	0,29	4 662 400	9,43309	Viele weisse Körperchen.
1. Juli	2550	39,5°	2,12	0,71	—	—	
2. »	2420	39 6°	2,06	0,93	5 313 400	9,73508	» » »
5. »	2520	39,5°	2,28	0,47	5 669 900	10,52117	» » »
8. »	2520	39,0°	2,30	0,53	6 398 400	11,63838	» » »
11. »	2510	38,9°	2,21	0,48	6 776 600	12,64798	» » »

Das Thier wurde am 12. Juli getödtet und bei der Autopsie nichts Abnormes gefunden, ausgenommen dass die durch die Operation verursachte Wunde eiterte.

Kaninchen No. 4 (Männchen).

Gewicht vor der Operation . . . 2320 gr.
Vom Thier entnommenes Blut . . 56 cbcm.

50 cbcm. der gewöhnlichen Mischung aus 1 Theil Kaninchenblut und 9 Theilen einer 0,6 procentigen Kochsalzlösung wurden in die Jugularis injicirt.

Dauer der Transfusion 5 Minuten. Gewicht nach der Transfusion 2200 gr.

Wie beim vorigen Versuch wurden Körpertemperatur und Gewicht beobachtet, auch wurden Bestimmungen von Harnstoff und Chlornatrium gemacht. (Siehe Tabelle.)

Datum.	Gewicht in Gramm.	Temperatur nach Celsius.	Harnstoff in Gramm.	Chlornatrium in Gramm.	Blutkörperchen im Cubikmillimeter.	Oxyhämoglobin in Grammen in 100 cbcm. Blut.	Bemerkungen.
27. Juni	2320	—	—	—	7 083 500	14,61991	1 Tag vor der Operation.
29. »	2300	—	—	—	7 176 500	14,65167	Unmittelbar vor d. Transfusion.
			Nach der Operation:				
30. »	2200	39,6°	—	—	4 191 200	8,52891	4 Stunden nach der Transfusion.
1. Juli	2150	38,8°	2,43	0,78	—	—	
2. »	2150	39,2°	1,29	0,36	—	—	
3. »	2200	39,4°	1,46	0,24	4 429 900	8,48236	
5. »	2250	39,6°	1,34	0,31	5 239 000	9,64143	Viele weisse Körperchen.
8. »	2180	39,0°	1,45	0,38	5 449 800	10,75262	» » »
11. »	2200	39,0°	1,62	0,38	5 660 600	11,10091	» » »

Das Thier wurde am 12. Juli getödtet. Bei der Autopsie wurde nichts Abnormes gefunden. Die durch die Operation verursachte Wunde eiterte.

In allen Fällen waren die Thiere nach der Operation in ausgezeichneter Körperbeschaffenheit und sehr lebendig.

Fassen wir die erhaltenen Resultate zusammen, so finden wir die beständige Wiederkehr dessen, was beim ersten Versuch genau dargelegt worden ist. Bei den letzten Versuchen war indessen die für die numerische Regeneration der Blutkörperchen und bis zur Erreichung des normalen Procentgehalts an Oxyhämoglobin erforderliche Zeit nicht so auffallend verschieden, wie in den ersten Versuchen, doch ist bei allen die Differenz ganz augenscheinlich.

Dies gleicht vollkommen dem Resultate der Beobachtungen, welche Dr. Jacob G. Otto bei seinen Untersuchungen[1]) über die Beziehung der Anzahl rother Blutkörperchen zur Quantität des Oxyhämoglobins im Blute nach bedeutenden, doch nicht tödtlichen Aderlässen gemacht hat. Er liess Kaninchen zur Ader, bis Krämpfe eintraten, nachdem er vor

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 36, S. 67.

der Operation Beobachtungen über die Anzahl der rothen Blutkörperchen und den Procentgehalt an Oxyhämoglobin gemacht hatte, und verfolgte den regenerativen Process, bis die normalen Quantitäten der Blutkörperchen sowohl wie des Oxyhämoglobins erreicht waren. Um die Uebereinstimmung der bei meiner Untersuchung erhaltenen Resultate mit denen vnn Otto zu zeigen, wird es das Beste sein, die Resultate zweier Experimente des Letzteren in übersichtliche Tabellen zu bringen. (Siehe Tabelle.)

Kaninchen No. 2 von Otto's Versuchsreihen.

	Gewicht des Thieres in Grammen.	Rothe Blutkörperchen per Cubikmillimeter.	Oxyhämoglobin in 100 cbcm. des Blutes.
1/2 Stunde nach dem Aderlass	2815	4 118 100	8,312
1 Tag » » »	2830	4 052 000	8,290
4 Tage » » »	2900	4 398 200	9,032
8 » » » »	2915	4 885 000	9,713
12 » » » »	2925	5 129 200	9,978
16 » » » »	2935	5 218 300	10,213
20 » » » »	2930	5 183 100	10,310
24 » » » »	2935	5 203 200	10,400
28 » » » »	2940	5 281 300	10,621

Kaninchen No. 2 von Otto's Versuchsreihen.

	Gewicht des Thieres in Grammen.	Rothe Blutkörperchen per Cubikmillimeter.	Oxyhämoglobin in 100 cbcm. des Blutes.
1/2 Stunde nach dem Aderlass	2955	3 886 300	8,077
1 Tag » » »	2965	3 751 800	8,108
4 Tage » » »	2985	3 916 800	8,082
8 » » » »	2995	4 703 100	9,482
12 » » » »	2995	4 908 300	9,732
16 » » » »	3000	4 910 200	9,893
20 » » » »	2995	4 998 100	10,078
24 » » » »	2995	4 908 300	10,123
28 » » » »	2990	4 912 400	10,148
32 » » » »	3000	4 910 800	10,313

Wie bemerkt werden muss, ist die Uebereinstimmung auffallend, namentlich dass bei einem sehr bedeutenden Aderlass und darauf folgender Transfusion von Blut, verdünnt durch 9 Theile des Volumens einer 0,6procentigen Kochsalzlösung, die Regeneration von Blut zwar viel schneller, aber genau in derselben Weise fortschreitet als bei einem ähnlichen Aderlass, bei dem die Transfusion nicht angewendet war.

Aus diesen Thatsachen lässt sich noch mehr ableiten, wenn der practische Nutzen der Transfusion von Blut gemischt mit einer Chlornatriumlösung in's Auge gefasst wird. Ein im andern Falle tödtlicher Blutverlust kann zu einem nicht tödtlichen werden und so kann durch dieses Verfahren manchmal das Leben gerettet werden.

Med.-Chem. Laboratorium der Universität von Pennsylvanien, Philadelphia.

Ueber die Reduction der Glykuronsäure durch Natriumamalgam.

Von

Dr. Hans Thierfelder.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Strassburg.)

(Der Redaction zugegangen am 9. September 1890.)

Vor einigen Jahren theilte ich Versuche[1]) über die Einwirkung von Natriumamalgam auf Glykuronsäure mit. Es war mir damals nicht gelungen, ein krystallisirendes Product zu isoliren; die Analyse eines amorphen Kalksalzes hatte Zahlen ergeben, welche für die Formel des glykonsauren Kalkes, dessen Bildung sich vermuthen liess, nur sehr annähernd stimmten. Die inzwischen wieder aufgenommene Untersuchung über diesen Gegenstand hat zu besseren Resultaten geführt, über welche im Folgenden kurz berichtet werden soll.

Reines glykuronsaures Natron wurde in der fünffachen Menge Wasser gelöst und in einer lose verschlossenen Flasche mit einigen Messerspitzen 2,5 procentigen Natriumamalgams versetzt; es begann alsbald eine reichliche Wasserstoffentwicklung. Ab und zu wurde die alkalische Reaction durch Zusatz von Schwefelsäure abgestumpft und das verbrauchte Natriumamalgam durch neues ersetzt; erst nach Wochen war die Glykuronsäure verschwunden, wie sich mit Hülfe der Kupferreductionsprobe nachweisen liess. Vor Kurzem gab E. Fischer[2]) an, dass die Reduction einer wässrigen Trauben

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 403, 1887.

[2]) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 23, S. 2133, 1890.

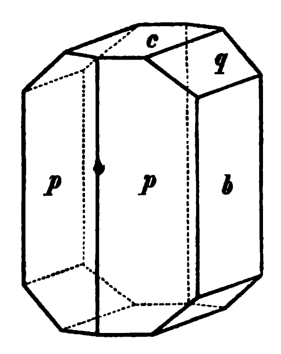
zuckerlösung mittelst Natriumamalgam durch andauerndes Schütteln sehr beschleunigt werden kann, dass bei Verwendung von Mengen von 10 gr. Glucose die Operation, welche sonst Wochen in Anspruch nimmt, nach 10 bis 12 Stunden beendet war; auch bei der Reduction der Glykuronsäure wirkt das Schütteln befördernd, aber nicht in dem Masse wie beim Traubenzucker: in einer Lösung, welche in 10 cbcm. Wasser 2 gr. Glykuronsäure enthielt, liess sich auch nach 30stündigem Schütteln, während dessen die Reaction stets schwach alkalisch gehalten wurde, noch Glykuronsäure nachweisen.

Nach Beendigung des Reductionsprocesses wurde die Flüssigkeit filtrirt, mit Schwefelsäure angesäuert und mit dem mehrfachen Volumen Alkohol versetzt; die vom ausgefällten schwefelsauren Natron abfiltrirte alkoholische Lösung dampfte ich auf dem Wasserbad unter Zusatz von Bariumcarbonat ein, nahm den Rückstand in Wasser auf, filtrirte, brachte die wieder auf ein kleines Volumen eingeengte Lösung in eine Flasche, säuerte mit Schwefelsäure an und schüttelte mit Aether, dem 20% Alkohol zugesetzt war, aus. Beim Verdunsten der alkoholisch-ätherischen Lösung hinterblieb eine geringe Menge eines Syrup, aus dem sich sofort oder nach kurzem Stehen kleine farblose harte Krystalle abschieden. Das Ausschütteln musste wegen der Schwerlöslichkeit der Substanz mehrmals mit neuen Portionen Aether-Alkohol wiederholt werden. Die Ausbeute betrug bei Verwendung von 2 gr. Glykuronsäure ungefähr 25%.

Ganz dieselben Krystalle, vielleicht in etwas geringerer Menge, wurden erhalten, wenn die Reduction des Natronsalzes nicht bei alkalischer, sondern bei saurer Reaction vor sich ging.

Aus Wasser umkrystallisirt erreichten die Krystalle eine Länge von fast 1 cm. und zeigten schön ausgebildete Krystallflächen.

Herr Dr. Linck, dem ich auch an dieser Stelle für seine Bemühungen besten Dank sage, hatte die Freundlichkeit, eine Messung vorzunehmen. Derselbe theilt mir darüber Folgendes mit:



«Krystallsystem: Rhombisch.

a : b : c = 0,5770 : 1 : 0,8285.

Beobachtete Formen: p = ∞P (110), q = P̆∞ (011), c = oP (001), b = ∞P̆∞ (010). s. Fig.

Die Krystalle sind bald vorherrschend prismatisch nach p = ∞P (110), bald mehr tafelförmig nach c = oP (001). Im ersteren Falle sind b, q, c ungefähr im Gleichgewicht, im letzteren b und p, und q ist nur ganz klein ausgebildet. Die Reflexe sind gut. Es wurde gemessen:

	Gemessen:	Berechnet:
p : p (110) : (1$\bar{1}$0) =	*59° 58′	—
q : q (011) : (0$\bar{1}$1) =	*79° 17′	—
q : p (011) : (110) =	71° 21′	71° 25′.

Spaltbarkeit konnte nicht beobachtet werden.

Die Axenebene liegt im Makropinakoid ∞P̄∞ (100) und die vermuthlich dem spitzen Axenwinkel angehörige Mittellinie steht senkrecht auf oP (001). Der Axenwinkel beträgt etwa 12 Theilstriche[1]) des vertikalen Polarisationsinstrumentes.»

Die Analyse der über Schwefelsäure im Vacuum getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0,1733 gr. Substanz lieferten 0,2561 gr. CO_2 und 0,0885 gr. H_2O.

	Gefunden:	Berechnet für $C_6H_{10}O_6$:
C	40,30	40,45
H	5,67	5,62

---

[1]) Wegen allzu geringer Menge von Substanz durfte kein Krystall zur weiteren optischen Untersuchung geopfert werden.

Es handelte sich also offenbar um das Lakton einer Säure von der Zusammensetzung $C_6H_{12}O_7$, deren Bildung sich hatte erwarten lassen. Die Analyse stimmt auch für die Formeln $C_5H_8O_6$ und $C_7H_{12}O_7$, doch ist die Möglichkeit einer Entstehung von Körpern mit diesem Kohlenstoffgehalt aus der Glykuronsäure durch Einwirkung von Natriumamalgam auszuschliessen.

Die Substanz hat einen schwach süssen Geschmack, sie ist in Wasser leicht löslich, in heissem Alkohol schwer löslich, beim Erkalten scheidet sie sich wieder ab. Die wässrige Lösung reagirt vollständig neutral; sie wird, wenn nicht zu verdünnt, durch Barytwasser gefällt, durch basisches Bleiacetat erst auf Zusatz von Ammoniak, nicht gefällt durch salpetersaures Silber; bei Gegenwart von Alkali vermag sie Kupferoxyd in Lösung zu erhalten, aber nicht zu reduciren.

Der Schmelzpunkt liegt beim raschen Erhitzen zwischen 178° und 180°, bei 180° ist die Masse vollständig geschmolzen.

Von Salzen wurden das Baryt-, das Kalk- und das Kalisalz dargestellt und zwar die ersten beiden durch dreiviertelstündiges Kochen der Laktonlösung mit Baryum- resp. Calciumcarbonat, das Kalisalz durch Umsetzen des Barytsalzes mit schwefelsaurem Kali; es gelang bisher nicht, dieselben zur Krystallisation zu bringen.

Um das Kalksalz zur Analyse vorzubereiten, wurde eine heisse wässrige concentrirte Lösung desselben auf dem Wasserbad mit Alkohol so lange versetzt, als der entstehende Niederschlag sich eben noch wieder löste; beim Erkalten schied sich am Boden und an den Wandungen ein zäher Syrup ab, der durch Verreiben mit Alkohol entwässert und dann pulverisirt wurde; nach dem Stehen über Schwefelsäure stellte die Substanz ein zartes weisses, lockeres Pulver dar, welches im Luftbade bei 104° getrocknet wurde; weiteres Erhitzen bis auf 113° bewirkte keinen Gewichtsverlust mehr und keine Dunkelfärbung.

0,1556 gr. Substanz lieferten 0,0225 gr. CaO.

	Gefunden:	Berechnet für $(C_6H_{11}O_7)_2Ca$:
Ca	10,3	9,3.

Die Bestimmung des Circumpolarisationsvermögens geschah in dem grossen Landolt'schen Halbschattenapparat bei Natriumlicht.

Das Lakton war über Schwefelsäure im Vacuum bis zu constantem Gewicht getrocknet.

27,6795 gr. Lösung enthielten 0,5845 gr. Lakton, das specifische Gewicht betrug 1,0086, in 1 cbcm. waren also 0,0213 gr. enthalten, Länge des Rohrs 2 dcm., Temperatur 19°. Der abgelesene Winkel betrug + 2,39. Daraus berechnet sich $\alpha_D = +56,1$.

Die Lösung zeigte frisch bereitet dieselbe Ablenkung wie nach längerem Stehen.

Das Kalksalz war bei 113° bis zu constantem Gewicht getrocknet.

Eine Lösung von 0,1945 gr. Kalksalz in 11,3260 gr. Wasser hatte das specifische Gewicht 1,0083, in 1 cbcm. waren also 0,0173 gr. enthalten, Länge des Rohrs 1 dcm., Temperatur 21°. Der abgelesene Winkel betrug — 0,25. Daraus ergibt sich $\alpha_D = -14,45$.

Eine abgemessene Menge der zu dieser Bestimmung benutzten Lösung wurde etwas concentrirt, mit der berechneten Menge Schwefelsäure versetzt, vom ausgeschiedenen Calciumsulfat abfiltrirt, wieder auf das ursprüngliche Volumen gebracht und der Polarisation unterworfen.

Der Ablenkungswinkel betrug jetzt — 0,01, woraus sich eine specifische Drehung der freien Säure von — 0,58 ergeben würde; nach 12stündigem Stehen hatte sich das Drehungsvermögen nicht verändert. Da eine so geringe Ablenkung schon innerhalb der Fehlergrenzen liegt, dürfte man die freie Säure als optisch inactiv ansprechen können.

Es frägt sich nun, ob die vorliegende Säure mit einer der bereits bekannten Säuren von der Zusammensetzung $C_6H_{12}O_7$ identisch ist. Um Glykonsäure oder Galaktonsäure kann es sich nicht handeln; sie bilden ein nur schwierig resp. gar nicht krystallisirendes Lakton und verhalten sich auch optisch anders. Ebenso ist die Mannitsäure auszuschliessen, welche

Fehling'sche Lösung zu reduciren vermag. Was schliesslich die 3 Mannonsäuren betrifft, so kann nur die d-Mannonsäure in Frage kommen, denn die l-Mannonsäure [Arabinosecarbonsäure von Kiliani[1])] bildet ein linksdrehendes, die i-Mannonsäure[2]) ein optisch inactives Lakton. Das Lakton der d-Mannonsäure[3]) zeigt annähernd dieselbe specifische Drehung, sie wird von E. Fischer zu $\alpha_D = 53{,}81$ angegeben; das Kalksalz ist ebenfalls linksdrehend[4]), aber schwächer als das Kalksalz der von mir gewonnenen Säure. Ausserdem unterscheiden sich beide insofern, als das d-mannonsaure Calcium ausserordentlich leicht, unser Kalksalz gar nicht oder sehr schwierig krystallisirt, vor Allem aber durch den Schmelzpunkt. Derselbe liegt für jenes bei 149°—153°, für unseres bei 180°. Weitere Untersuchungen, für die mir zur Zeit das Material fehlt, müssen über die Natur der neuen Säure Aufklärung bringen.

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 19, S. 3034, 1886.

[2]) Ebenda, Bd. 23, S. 376, 1890.

[3]) Ebenda, Bd. 22, S. 3222, 1889.

[4]) Eine 5procentige Lösung zeigt nach E. Fischer (Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 23, S. 386, 1890) eine Linksdrehung von 0,35°, während eine 1,7procentige Lösung des vorliegenden Kalksalzes —0,25° dreht.

Weitere Beiträge zur Kenntniss der Cystinurie.

Von

L. v. Udránszky und **E. Baumann.**

(Der Redaction zugegangen am 18. October 1890.)

In einer früheren Mittheilung[1]) haben wir gezeigt, dass im Harn und in den Darmentleerungen eines an Cystinurie leidenden Patienten zwei von Brieger[2]) entdeckte Ptomaine, das Pentamethylendiamin (Cadaverin) und das Tetramethylendiamin (Putrescin) auftraten. Beide Basen fanden sich im Harn des Patienten neben dem Cystin während längerer Zeit in erheblicher Menge, zeitweilig aber ging ihre Ausscheidung im Harn bis auf Spuren zurück. Als constante und fast unverändert fortbestehende Erscheinung erwies sich das Vorkommen der genannten Basen in den Darmentleerungen des Patienten. Da in den normalen Excreten von Menschen und Thieren trotz vieler darauf gerichteter Versuche, ebensowenig als in den Entleerungen von Personen, welche an den verschiedensten Erkrankungen litten[3]), Diamine bisher nicht nachgewiesen werden konnten, wurde der Schluss nahe gelegt, dass die Cystinurie mit der Ausscheidung der Diamine in einem bestimmten, wenn auch vorläufig nicht erklärbaren, Zusammenhang stehe. Dieser Schluss wurde fast zur Gewissheit erhoben, als bald nach unserer ersten Mittheilung

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 562.

[2]) L. Brieger, Untersuchungen über die Ptomaine, Berlin 1886.

[3]) Mit Ausnahme der Cholerastühle, in welchen das Auftreten von Diaminen — obwohl noch nicht direct nachgewiesen — ausserordentlich wahrscheinlich ist; s. d. Zeitschr., Bd. 13, S. 588.

Brieger und Stadthagen in zwei weiteren Fällen von Cystinurie das Auftreten von Diaminen constatirten[1]).

Dass die Diamine Producte der Lebensthätigkeit specifischer Bacterien sind, hat Brieger gezeigt, die Bedingungen, unter welchen wir das Auftreten dieser Basen im Darm und im Harn unseres Cystinkranken beobachtet haben, lassen keinen Zweifel darüber bestehen, dass hier ihre Productionsstätte der Darminhalt ist, und dass ein grösserer oder kleinerer Theil der vom Darm aus zur Resorption gelangten Basen im Harn ausgeschieden wird.

Dagegen kann die Bildung des Cystins nicht in den Darm verlegt werden. Abgesehen davon, dass im Darminhalt weder Cystin noch cystinähnliche Körper nachgewiesen werden konnten, spricht gegen eine solche Annahme die durch frühere Beobachtungen festgestellte Thatsache, dass das Cystin oder das Cysteïn ein normales intermediäres Stoffwechselproduct darstellt. Dieses kann den unter gewöhnlichen Bedingungen seine weitere Umwandlung bewirkenden Processen im Organismen von Hunden dadurch entzogen werden, dass man diesen Thieren Halogensubstitutionsproducte des Benzols verabreicht, welche mit dem Cystin zu Mercaptursäuren vereinigt in einer Combination mit Glycuronsäure im Harn zur Ausscheidung gelangen. Man kann demnach diese Mercaptursäureproduction als eine künstliche Cystinurie bezeichnen, welche beim Hunde in erheblicher Menge stattfinden kann, beim Menschen[2]) aber gar nicht oder nur in sehr geringem Grade hervorgerufen werden kann.

Es ist desshalb nicht wohl daran zu denken, dass der Zusammenhang der Diaminbildung mit der Cystinurie darin bestehe, dass die Bacterien, welche die Diamine produciren, auch das Cystin durch ihren Lebensprocess liefern. Für die Erklärung der Cystinausscheidung im Harn kommt es nach Goldmann's Versuchen, welcher gezeigt hat, dass das dem Organismus von aussen zugeführte Cystin bez. Cysteïn bis

---

[1]) Berlin. klin. Wochenschr., 1889, No. 16.

[2]) B. Mester, diese Zeitschr., Bd. XIV, S. 147.

zur Bildung von Schwefelsäure und einer leicht löslichen Sulfosäure oxydirt wird, vielmehr darauf an, die Ursache aufzufinden, durch welche das intermediär gebildete Cystin vor solcher Oxydation in den Geweben geschützt wird.

Die Vergesellschaftung von der Cystinurie und der Diaminproduction wäre nach diesen Ausführungen ohne Weiteres verständlich, wenn die Diamine dadurch zur Cystinurie führten, dass sie mit dem in den Geweben gebildeten Cystin eine Verbindung eingingen, welche jenes vor der Oxydation schützte, und etwa bei der Absonderung des Harns in den Nieren, das freie Cystin wieder abspalteten.

Man konnte erwarten, über diese Frage durch Stoffwechselversuche an Thieren, welchen Diamine verabreicht wurden, einen Aufschluss zu erlangen. Wir haben diese Versuche an Hunden ausgeführt, weil im Hinblick auf die Mercaptursäurebildung bei diesen Thieren die Bedingungen auch für eine Cystinausscheidung günstig zu liegen schienen, andererseits weil für Hunde die Diamine, wie einige Vorversuche lehrten, so gut wie gar nicht giftig sind.

Fütterungsversuche mit Diaminen.

1. Aethylendiamin.

Wir begannen unsere Versuche mit dem einfachst zusammengesetzten Diamin, obschon das Auftreten dieser Base bei der Cystinurie nicht beobachtet wurde, weil a priori anzunehmen war, dass das Aethylendiamin in ähnlicher Weise auf den Organismus wirken würde, wie die ihm homologen Körper.

Ein Hund von 6 Kilo Gewicht erhielt mit dem Futter 1,5 gr. salzsaures Aethylendiamin. Der an den folgenden Tagen entleerte Harn wurde mit Benzoylchlorid und Natronlauge auf das Diamin in der früher ausführlich geschilderten Weise geprüft[1]). Das Resultat war ein negatives.

[1]) Diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 564.

Nach Darreichung von 3,6 gr. lieferte der in den folgenden 24 Stunden gesammelte Harn 0,413 gr. Dibenzoyläthylendiamin, welches, durch Umkrystallisiren aus Eisessig gereinigt, bei 243° schmolz. Beim Kochen des Harns mit Natronlauge und einem Tropfen Bleiacetat trat wie im normalen Harn nur eine geringe Dunkelfärbung ein, ohne dass es zur Abscheïdung einer merklichen Menge von Schwefelblei kam.

Der Harn des zweiten Tages nach Darreichung des Diamins enthielt keine nachweisbaren Mengen desselben mehr. In den Fäces wurde keine Spur der Base gefunden.

2. Tetramethylendiamin (Putrescin).

Nach Eingabe von 0,5 gr. salzsaurem Tetramethylendiamin enthielt der Harn keine nachweisbaren Mengen der Base. Nach Verfütterung von 3 gr. des gleichen Salzes lieferte der Harn vom folgenden Tage 0,056 gr. Dibenzoyltetramethylendiamin vom Schmelzpunkt 175°.

Eine Störung des Wohlbefindens trat auch in diesem Falle nicht ein. Der Harn zeigte beim Kochen mit Natronlauge und Bleioxyd dasselbe Verhalten wie nach Eingabe des Aethylendiamins. In den Fäces war Tetramethylendiamin nicht nachzuweisen.

3. Pentamethylendiamin (Cadaverin).

Nach Verfütterung von 0,5 gr. des salzsauren Salzes dieser Base, welche nach Ladenburg's Methode gewonnen wurde, war letztere im Harn und in den Darmentleerungen nicht nachzuweisen.

Als 4 gr. desselben Salzes demselben Hunde von 6 Kilo Gewicht eingegeben wurden, lieferte der Harn des folgenden Tages eine geringe Menge einer Benzoylverbindung, welche durch Umkrystallisiren aus Eisessig gereinigt wurde. Diese Substanz erwies sich aber nicht als Dibenzoylpentamethylendiamin, welches bei 130—131° schmilzt; ihr Schmelzpunkt lag vielmehr bei 285°. Sie unterschied sich von der Penta-

methylendiaminverbindung ausserdem durch ihre wesentlich geringere Löslichkeit in kaltem Weingeist.

Um das auffällige Ergebniss dieses Versuches weiter zu prüfen, wurde demselben Hunde eine Quantität von 10 gr. der Base, in Form des essigsauren Salzes, welches zum Syrup verdunstet war, in Gelatinekapseln eingegeben. Nach 2½ Stunden wurden 340 cbcm. Harn entleert, aus welchen 0,722 gr. Benzoylverbindung gewonnen, welche die Eigenschaften des Dibenzoylpentamethylendiamins zeigte und bei 128—129° schmolz. Beim Lösen der Benzoylverbindung in kaltem Weingeist blieb eine kleine Menge einer höher schmelzenden Substanz zurück, welche aber für eine weitere Untersuchung nicht ausreichte. 3 Stunden nach der Eingabe erbrach der Hund eine geringe Menge schleimiger Massen, welche nur noch Spuren von Pentamethylendiamin enthielt. Fast gleichzeitig folgten rasch nach einander 2 diarrhöische Entleerungen, von welchen die letzte zur Prüfung auf Diamin gesammelt wurde. Aus ihr wurden nach dem früher beschriebenen Verfahren[1]) 0,165 gr. Dibenzoylpentamethylendiamin vom Schmelzpunkt 130° gewonnen.

Der Harn des folgenden Tages (560 cbcm.) lieferte gleichfalls eine Abscheidung von Benzoyldiamin, dessen Gewicht 0,265 gr. betrug. Diese erwies sich aber als identisch mit der früher beobachteten Benzoylverbindung vom Schmelzpunkt 285°. Aus dem Harn vom 3. Tag wurden noch 0,046 gr. derselben Substanz gewonnen. Die später erfolgenden Entleerungen waren frei von Diaminen.

Die Analyse der hoch schmelzenden Benzoylverbindung ergab, dass eine mit dem Dibenzoylpentamethylendiamin isomere Substanz vorlag:

	I.	II.	Berechnet für $C_5H_{10}(NHCOC_6H_5)_2$:
C	74,14	—	73,60
H	6,99	—	7,09
N	—	9,04	9,03

[1]) Diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 584.

Es konnte demnach scheinen, als ob im Organismus ein Theil des Pentamethylendiamins in eine isomere Base verwandelt worden sei. Ein solcher Vorgang wäre an sich auffällig und ohne Analogie. Es schien daher zunächst geboten, das von uns verwendete Pentamethylendiamin einer genaueren Prüfung zu unterziehen. Diese führte zu der Erkenntniss, dass das von uns benützte Pentamethylendiamin, wenn auch in geringer Menge, eine isomere Base schon enthielt, deren Benzoylverbindung mit dem bei 285° schmelzenden aus dem Harn gewonnenen Körper identisch ist.

Man konnte zunächst daran denken, dass die Entstehung dieser isomeren Base auf eine Beimengung von Propylenbromid zu dem Trimethylenbromid, aus welchem das Diamin gewonnen wurde, zurückzuführen sei. Wir haben desshalb zu einer neuen Darstellung der Base sorgfältig gereinigtes Trimethylenbromid (Siedep. 164—165°) benützt. Das daraus gebildete Trimethylencyanid wurde durch wiederholte Destillation wieder gereinigt, und nur der zwischen 274—275° siedende Antheil des Präparates zur Reduction verwendet. Da die Siedepunkte des Propylenbromids (141,5°) und des Trimethylenbromids (164,5—165,5°), ferner des Propylencyanids (252—254°) und des Trimethylencyanids (274°) hinreichend weit aus einander liegen, war anzunehmen, dass das gereinigte Trimethylencyanid keine isomere Verbindung beigemengt enthielt. Von diesem wurden 20 gr. nach Ladenburg's Methode mit Natrium in absolutem Alkohol auf dem Wasserbade reducirt. Nach Entfernung des Weingeistes und des Ammoniaks wurde die gebildete Base mit überhitztem Wasserdampf abdestillirt. Etwa der zwölfte Theil der so erhaltenen wässerigen Lösung der Base wurde benzoylirt. Das Product der Benzoylirung wurde in heissem Weingeist gelöst und mit viel Wasser gefällt. Man erhielt so 1,441 gr. farbloser Krystalle der Benzoylverbindung. Diese fing bei 127° an zu schmelzen, war bei 130° verflüssigt, die zerschmolzene Substanz war aber nicht klar, sondern leicht getrübt, woraus schon auf eine Beimengung zu schliessen war. In kaltem Weingeist löste sie sich zum grösseren Theil

auf, durch Concentration dieser Lösung wurde noch etwas von der schwerer löslichen Substanz erhalten. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Weingeist, wobei sie in dünnen durchsichtigen Prismen abgeschieden wurden, zeigten die Krystalle den Schmelzpunkt 278°, der bei weiterer Reinigung sich bis auf 284° erhob. Krystallform und Löslichkeit stimmten durchaus mit der aus dem Harn dargestellten Benzoylverbindung überein, so dass an der Identität beider nicht zu zweifeln war. Aus den obigen 1,441 gr. des Productes der Benzoylirung wurden im Ganzen 0,121 gr. der hoch schmelzenden Benzoylirung gewonnen, woraus eine Beimengung von ca. 8 Procent einer isomeren Base zu dem Pentamethylendiamin sich ergiebt.

Die bei dem oben geschilderten Fütterungsversuche gewonnenen Resultate finden nunmehr dahin ihre Erklärung, dass beim Hunde das dem Stoffwechsel zugeführte Pentamethylendiamin leichter als die beigemengte isomere Base zerstört wird, so dass ersteres nur nach sehr grossen Gaben in den Harn übertritt, und eine relative Anhäufung der isomeren Verbindung im Harn bewirkt wird.

Wir sehen hier ab von einer weiteren Erörterung der Beziehungen der isomeren Base zum Pentamethylendiamin, die an anderer Stelle weiter verfolgt werden sollen, weil sie für die hier behandelten Fragen nicht in Betracht kommen.

Der Harn der Hunde, welche Pentamethylendiamin erhalten haben, lieferte beim Kochen mit Natronlauge und Bleioxyd in keinem Falle eine gegen die Norm vermehrte Abscheidung von Schwefelblei. Die Base bewirkte somit so wenig als die früher verfütterten Diamine eine Ausscheidung von Cystin.

Wenn das für den Stoffwechsel des Hundes festgestellte Resultat auch für den Menschen Giltigkeit hat, so bestünde ein directer Zusammenhang der Cystinausscheidung mit dem Auftreten der Diamine im Organismus nicht. Die Ursache der Cystinurie wäre in diesem Falle also nicht die Bildung der Diamine; beide Vorgänge müssten dann in einer entfernteren indirecten Beziehung zu einander stehen, wenn nicht

gar ihr Zusammentreffen, wie wir zuerst anzunehmen geneigt waren, als ein zufälliges anzusehen ist. Dieser letztere Schluss würde indessen im Hinblick auf das bis jetzt vorliegende Beobachtungsmaterial zum mindesten verfrüht sein. Man müsste zuvor jedenfalls eingehende Versuche über die Einwirkung der Diamine auf den Stoffwechsel beim Menschen, und zwar möglichst unter ähnlichen Bedingungen, wie diese bei der natürlichen Bildung der Diamine im Darm bestehen, anstellen.

Die Möglichkeit, dass ein dritter noch unbekannter Stoff, welcher die Diaminbildung begleite, die Ursache der Cystinurie sei, wird erst dann in's Auge zu fassen sein, wenn die zuerst angeregte Frage eine bestimmte Entscheidung gefunden hat. Diese suchten wir zunächst auf einem anderen, und zwar directen, Wege herbeizuführen, über welchen im 2. Theile dieser Mittheilung berichtet wird.

Bevor wir zur Schilderung dieser Versuche übergehen, möchten wir zu dem Verhalten der Diamine im Organismus noch bemerken, dass die Salze dieser Basen für Hunde nicht wohl als Gifte anzusehen sind. Der Umstand, dass nach Eingabe von 10 gr. Pentamethylendiamin in Form des essigsauren Salzes einmaliges Erbrechen und schnell vorübergehende Diarrhoe eintrat, kann nicht als eine specifische Wirkung jener Substanz betrachtet werden; diese Erscheinungen sind vielmehr nur durch die grosse Menge des eingeführten Salzes bedingt worden und wurden auch durch grössere Gaben von Ammoniumacetat bei demselben Thier hervorgerufen.

Brieger (l. c.) hat Tetra- und Pentamethylendiamin als wenig giftige Basen bezeichnet, und Behring[1]), welcher an Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen mit der zuletzt genannten Base Versuche anstellte, fand, dass dieselbe in grösseren Dosen als tödtliches Gift wirkt. Hunde sind demnach wesentlich weniger empfindlich gegen Diamine, als die Thiere, mit welchen Behring experimentirt hat.

---

[1]) Deutsch. Med. Wochenschr., 1888, No. 24.

2. Ueber den Einfluss von Darmausspülungen auf die Ausscheidung der Diamine und des Cystins.

Wenn die Diaminbildung und die Cystinurie von einander untrennbare Erscheinungen sind, so muss, wenn es gelingt, eine von beiden zum Verschwinden zu bringen, auch die andere aufhören. Da die Diamine durch die Thätigkeit von Bacterien im Darm entstehen, so ist a priori die Möglichkeit gegeben, ihre Production zu beeinflussen. Der Ausführung des Versuches steht aber wesentlich das Bedenken entgegen, dass stark antibacteriell wirkende Mittel nicht leicht in genügend grossen Dosen zur Anwendung gelangen können, beziehungsweise dass ganz unschädliche Stoffe, durch welche eine weitgehende Desinfection des Darmrohres bewirkt werden könnte, zur Zeit nicht bekannt sind.

Einige Versuche in dieser Richtung sind bei unserem Cystinpatienten von B. Mester[1]) angestellt worden, welcher durch Eingabe von Salol und von Schwefel auf die Fäulnissprocesse im Darm einzuwirken suchte. Die Darreichung von Salol in Dosen von 6 gr. pro Tag beeinflusste indessen die Cystinausscheidung gar nicht, und qualitative Versuche zeigten uns damals, dass auch die Diaminproduction nicht merklich geändert worden war.

Bei Einführung grösserer Mengen von Schwefel (30 gr. an 4 auf einander folgenden Tagen) fand Mester, dass am 1. Tage nach der Schwefeldarreichung die absolute Menge des nicht oxydirten Schwefels im Harn und damit auch die Cystinausscheidung auf mehr als die Hälfte zurückging. Dieses Ergebniss konnte indessen leider nicht weiter verfolgt werden, weil an den folgenden Tagen trotz weiterer Schwefelzufuhr die Cystinausscheidung sich wieder auf den früheren Stand erhob. Auch hier wurde durch qualitative Versuche festgestellt, dass nach Beendigung der Schwefelgaben eine merkbare Verminderung der Diaminbildung nicht eingetreten war.

[1]) Diese Zeitschr., Bd. XIV, S. 132 und 129.

Als wir im Anfange dieses Jahres durch das freundliche Entgegenkommen von Herrn Prof. Kraske, welchem wir hierfür unseren verbindlichsten Dank aussprechen, wiederum einige Beobachtungen an dem Cystinpatienten, welcher im Uebrigen seit seiner letzten Aufnahme in der chirurgischen Klinik sich dauernd wohl befunden hat und nicht nur willig, sondern mit dankenswerthestem Interesse auf unsere Intentionen einging, anstellen konnten, versuchten wir in einer anderen Weise, als es Mester gethan hatte, auf die Fäulnissprocesse im Darm desselben einzuwirken.

Die Gegenwart erheblicher Mengen der leicht löslichen und resorptionsfähigen Diamine in den Darmentleerungen wies darauf hin, dass der Ort ihrer Bildung in den unteren Abschnitten des Darmrohres zu suchen sei, und diese Erwägung legte es nahe, zu versuchen, ob der Process der Diaminbildung durch Ausspülungen des Dickdarms mit grossen Mengen von Wasser herabgedrückt oder aufgehoben werden könne.

Vor Beginn der Ausspülungen wurden an einer Reihe von Tagen die Cystinausscheidung im Harn und die Diamine in den Darmentleerungen bestimmt. Es hatte sich gezeigt, dass zu jener Zeit — zum Unterschiede gegen früher — die Diamine im Harn in so geringer Menge auftraten, dass diese Ausscheidung unberücksichtigt bleiben konnte.

Während der Ausspülungstage ging ein mehr oder weniger erheblicher Theil, $^1/_3$ bis $^3/_4$, der Darmentleerungen verloren, was bei der Beurtheilung der quantitativen Bestimmungen von Wichtigkeit ist.

Mester hat in seiner Arbeit über Cystinurie durch Bestimmung des Gesammtschwefels und der Schwefelsäure den nicht oxydirten Schwefel ermittelt, und daraus die Menge des im Harn gelösten Cystins ermittelt. Es ist für unseren Fall von Cystinurie charakteristisch, dass das Cystin zum weitaus grössten Theil im Harn gelöst bleibt, während in dem beim Stehen des Harns gebildeten Sediment die Ab-

scheidung des Cystins immer gering und oft eine minimale war. Mester hatte sich durch einige Versuche überzeugt, dass das von Loebisch[1]) angegebene Verfahren, das im Harn gelöste Cystin durch Stehenlassen des mit Essigsäure angesäuerten Harns (auf 500 cbcm. Harn 20 cbcm. 20procentiger Essigsäure), zur Bestimmung des Cystins sich nicht verwenden lasse. Neuerdings sprach Loebisch[2]) sich dahin aus, dass vielleicht ein besseres Resultat durch Anwendung einer geringeren Menge von Essigsäure, weil ein Ueberschuss desselben Cystin wieder löse, oder durch Einleiten von Kohlensäure in den Harn sich erzielen lasse. Wir erhielten weder beim Zusatz von geringeren Mengen Essigsäure, noch beim Einleiten von Kohlensäure in den Harn eine reichlichere Cystinabscheidung, als durch Eiskühlung des neutralisirten Harns allein. In allen Fällen wurden aber auf diesem Wege nur minimale Mengen von Cystin zur Krystallisation gebracht, während auf anderem Wege sich feststellen liess, dass der so behandelte Harn im Liter immer noch 0,3 bis 0,4 gr. Cystin enthielt.

Es giebt bis jetzt nur eine Methode, durch welche man das im Harn gelöste Cystin wenigstens zu einem erheblichen Theile in Substanz gewinnen kann, das ist das auf der Bildung von Benzoylcystin beruhende früher beschriebene Verfahren[3]). Aus einer wässerigen alkalischen Lösung des Cystins kann man letzteres nahezu quantitativ in Form der Benzoylverbindung wieder gewinnen[4]). Viel weniger vollständig gelingt diese Art der Abscheidung aus dem Harn, wie der unten beschriebene Controlversuch zeigt, bei welchem zugleich das gegen früher etwas veränderte Verfahren ersichtlich ist.

1 Liter normalen Harns (spec. Gew. 1,014 und schwach saure Reaction), in welchem 0,476 gr. Cystin durch gelindes

---

[1]) Lieb. Ann., Bd. 182, S. 231.
[2]) Internat. Centralbl., Harn- u. Sexual-Org. von Zuelzer, I, S. 456.
[3]) Diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 564.
[4]) Goldmann und Baumann, ebend., Bd. XII, S. 256.

Erwärmen gelöst waren, wurde nach dem Erkalten mit 10 cbcm. Benzoylchlorid und 120 cbcm. Natronlauge (von 10 Proc.) bis zur Beendigung der Reaction geschüttelt. Die von den Benzoylverbindungen der Kohlehydrate abfiltrirte Lösung wurde mit 10 cbcm. Schwefelsäure von 25 Procent versetzt und 3mal mit dem gleichen Volum Aether ausgeschüttelt. Der Aetherrückstand, welcher das Benzoylcystin neben viel Benzoesäure enthielt, wurde mit Natronlauge von 12 Procent neutralisirt, die Lösung der Natriumsalze wurde mit dem doppelten Volum Natronlauge von gleicher Concentration versetzt und auf 0° abgekühlt. Nach 2 Stunden wurde der aus glänzenden Blättchen bestehende Niederschlag des in Natronlauge fast unlöslichen Natriumsalzes des Benzoylcystins abfiltrirt, mit wenig kalter Natronlauge einmal gewaschen, in 600 cbcm. Wasser gelöst und mit Salzsäure stark angesäuert. Das in Form einer Gallerte abgeschiedene Benzoylcystin wird abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und gewogen.

In dieser Weise wurden aus 0,476 gr. Cystin, welche in einem Liter Harn aufgelöst waren, 0,337 gr., d. i. 40 Procent der theoretischen Ausbeute an Benzoylcystin erhalten. Eine Reihe von Bestimmungen des Cystins nach dem gleichen Verfahren zeigte indessen, dass der beträchtliche Fehler dieser Methode, unter sorgfältiger Beobachtung der angegebenen Verhältnisse, bei verschiedenen Bestimmungen ziemlich gleich bleibt, so dass es zulässig ist, dieselbe zu vergleichenden Bestimmungen des Cystins zu benützen. Der Umstand, dass gegen alle indirecten Ermittelungen des Cystins Einwände doch möglich sind, und die Erwägung, dass eine erhebliche Abnahme des Cystins im Harn auch durch diese unvollkommene Gewinnung desselben angezeigt werden musste, sprach weiter für die Verwerthung derselben für unseren Zweck. Dabei haben wir nicht unterlassen, das Endergebniss unserer Beobachtungen durch die Ermittelung der Ausscheidung des nicht oxydirten Schwefels durch die von Mester benützte indirecte Methode der Cystinbestimmung zu controliren.

Die Diamine wurden aus den Fäces nach dem früher beschriebenen Verfahren[1]) dargestellt und in Form ihrer Benzoylverbindungen gewogen. Letztere bestanden, wie früher (l. c.), zum weitaus grössten Theile aus Benzoyl-Tetramethylendiamin.

Die Ausführung der Darmausspülungen hatte Herr Dr. E. Goldmann, Assistenzarzt der chirurgischen Klinik, die Freundlichkeit, auszuführen, wofür wir ihm zu bestem Danke verpflichtet sind.

Die Resultate der ausgeführten Bestimmungen, welche über 10 Tage sich erstrecken, sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

	Harnmenge.	Benzoylcystin.	Benzoyldiamine.	Bemerkungen.
1. Tag	1450	0,668 gr.	1,405 gr.	
2. »	1900	0,601 »	2,535 »	
3. »	1500	0,629 »	2,856 »	
4. »	1650	0,572 »	2,367 »	
5. »	1750	0,501 »	1,904 »	
6. »	—	—	— [2])	3 Ausspülungen mit je $1^1/_2$ Litern Wasser.
7. »	850	0,282 »	0,958 » [3])	Ebenso.
8. »	1490	0,780 »	0,725 » [3])	3 Ausspülungen mit je 3 Litern Wasser in der Knieellenbogenlage.
9. »	1700	0,685 »	1,057 » [3])	Ebenso.
10. »	1920	0,587 »	2,325 »	

[1]) Diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 584.

[2]) An diesem Tage wurden die Bestimmungen nicht ausgeführt, weil der grössere Theil vom Harn und Koth verloren ging.

[3]) An diesen Tagen ging etwa die Hälfte der Darmentleerungen durch die Autspülungen verloren.

Die Ausscheidung des Cystins und der Diamine blieb also von den Darmausspülungen so gut wie ganz unbeeinflusst. Die Ermittelung des oxydirten und nicht oxydirten Schwefels am 10. Tage bestätigte das Resultat der Cystinbestimmungen:

Harnmenge	Spec. Gew.	Gesammtschwefel.			Gesammtschwefelsäure.			Nicht oxyd. Schwefel absol. Menge	Procente des nicht oxyd. vom Gesammtschwefel.
		In 50 cbcm. Harn		Absol. Menge	In 50 cbcm. Harn		Absol. Menge		
		als $BaSO_4$	als S		als $BaSO_4$	als S			
cbcm.		gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	
1920	1,014	0,184	0,0253	0,971	0,107	0,0147	0,564	0,407	42

Diese Werthe fallen fast ganz zusammen mit den von Mester[1]) bei seinen Bestimmungen des oxydirten und nicht oxydirten Schwefels im Cystinharn erhaltenen Zahlen.

Es ist bemerkenswerth, dass durch die Darmausspülungen auch die normale Darmfäulniss, soweit die Bestimmung der Aetherschwefelsäureausscheidung einen quantitativen Ausdruck liefert, nicht vermindert wurde, ja dass sogar die Menge der Indoxylschwefelsäure nach den Ausspülungen im Harn merklich stärker war als vor derselben, was durch colorimetrische Vergleichung der Jaffe'schen Indicanreaction mit Proben des Harns der zu vergleichenden Tage ermittelt wurde.

50 gr. Harn (vom 10. Tag) lieferten 0,0965 gr. $BaSO_4$ aus den Sulfaten und 0,0105 gr. $BaSO_4$ aus den Aetherschwefelsäuren. Daraus berechnet sich das Verhältniss[2]) $\frac{A}{B} = 9{,}2$. Bei einer Bestimmung an einem den Aus-

---

[1]) L. c.

[2]) Ueber die Bedeutung des Verhältnisses $\frac{A}{B}$ bei Cystinurie gilt das früher hierüber Gesagte. Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 589, und B. Mester, ebend., Bd. XIV, S. 120.

spülungen vorhergehenden Tage wurde der Werth $\frac{A}{B} = 14$ ermittelt. Daraus geht hervor, dass die oft wiederholten Wassereingiessungen in den Darm eine ähnliche Wirkung wie die Laxantien auf die Fäulnissprocesse im Darm ausüben [1]).

Mester [2]) hat aus den von ihm in grosser Zahl ausgeführten Bestimmungen des in verschiedener Form gebundenen Schwefels im Cystinharn berechnet, dass letzteres in der Tagesmenge gegen 1,0 gr. Cystin gelöst enthalte. Zu einem nahezu gleichen Ergebniss führen unsere Versuche, das Cystin in Form seiner Benzoylverbindung abzuscheiden, wofern man die bei dem Controlversuche erhaltene Ausbeute von 40 Procent als massgebend gelten lässt. Letztere betrug im Mittel von 8 Tagen 0,628 gr. Benzoylcystin = 0,3365 gr. Cystin. Nimmt man in Uebereinstimmung mit dem Controlversuch an, dass die gefundene Menge 40 Procent des wirklich vorhandenen Cystins darstellt, so berechnet sich der mittlere Gehalt des Harns von 24 Stunden an Cystin zu 0,841, welcher dem von Mester auf anderem Wege ermittelten Werthe ziemlich nahe kommt.

Die im Vorstehenden beschriebenen Versuche sind im Wesentlichen eine Ergänzung und weitere Ausführung unserer ersten Mittheilung geblieben, während die zur Aufklärung des Zusammenhanges der Cystinurie mit der Diaminbildung unternommenen Beobachtungen eine entscheidende Beantwortung dieser Frage nicht geliefert haben. Es zeigte sich vielmehr, dass schon bei der Verfolgung der nächstliegenden Consequenzen unserer früheren Beobachtungen erhebliche Schwierigkeiten zu überwinden sind. Die Möglichkeit, die Eingangs angeregten Fragen über die Cystinurie auf dem

[1]) Vergl. Morax. Diese Zeitschr., Bd. X. S. 318.
[2]) L. c.

eingeschlagenen Wege zu entscheiden, ist aber desshalb, weil die ersten Versuche nicht zum Ziele geführt haben, keineswegs in Zweifel zu ziehen, wenn auch die weitere Verfolgung jener Beziehungen, für welche unsere Versuche als Vorarbeiten dienen können, noch viel Zeit und Geduld in Anspruch nehmen mag.

In welcher Form wird das Eisen resorbirt?

Von

C. A. Socin, cand. med.

(Aus dem Laboratorium von Professor Dr. G. Bunge in Basel.)

(Der Redaction zugegangen am 28. October 1890.)

Die Lösung der Frage nach der Resorbirbarkeit der Eisenverbindungen ist von hohem Interesse nicht nur für den Physiologen, sondern auch für den praktischen Arzt und Kliniker, dem sie bei der Behandlung einer wichtigen Krankheit, der Chlorose, schätzenswerthe Aufschlüsse zu geben im Stande ist.

Es ist bis jetzt schon sehr oft versucht worden, der Lösung der Frage näher zu treten. Auf verschiedenen Wegen suchte man zu dem erstrebten Ziele zu gelangen.

Während es schon lange bekannt war und stets wieder durch neuere und sorgfältigere Untersuchungen bewiesen wurde, dass subcutan oder intravenös injicirtes Eisen durch Harn und Fäces bald wieder ausgeschieden wurde, für die Oekonomie des Körpers also wohl werthlos sei[1]), herrschte bis vor Kurzem

[1]) Man lese hierüber die Arbeiten von: Aug. Mayer: De ratione qua ferrum mutetur in corpore, Diss.-Inaug., Dorpat 1850; Claude Bernard: Archives général. de médecine, V Série, tome I, p. 5, 1853; Kölliker und Müller: Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg, Bd. VI, 1855, S. 516; Quincke: Archiv für Anat. u. Physiol., 1868, S. 757; Lussana: Schmidt's Jahrbücher, Bd. 156, S. 262, 1872; Rosenthal: Wiener medizinische Presse, Jahrg. XIX, S. 405 ff., 1878; Lor. Scherpf: Ueber Resorption und Assimilation des Eisens, Dissert.-Inaug., Würzburg 1878; Lud. Glaevecke: Ueber d. Ausscheidung u. Vertheil. des Eisens im thier. Organismus, Dissert.-Inaug., Kiel 1883; Carl Jacoby: Ueber Eisenausscheidung aus dem Thierkörper nach subcutaner und intravenöser Injection, Dissert.-Inaug., Strassburg i. E. 1887; Jacoby fand allerdings, dass in dem Harn nur ein geringer Bruchtheil des injicirten Eisens wieder erscheint, über die Eisenausscheidung in den Fäces macht er leider keine genaueren Angaben. Es scheint aber aus dem Versuch hervorzugehen, dass sie bedeutend war.

noch über die Resorbirbarkeit und die Assimilationsfähigkeit der innerlich gereichten Eisenpräparate grosse Uneinigkeit.

Wöhler[1]), Vetter[2]), C. F. Müller[3]), Gélis[4]), Kletzinsky[5]), die beiden Letzteren auf Grund sehr genauer und umfassender Untersuchungen, theilweise an sich selbst angestellt, stellten die Resorptionsfähigkeit der anorganischen Eisenpräparate durch den tractus intestinalis entschieden in Abrede.

Der weitaus grösste Theil der Autoren aber, so Becquerel[6]), Herberger[7]), Heller[8]), Aug. Mayer[9]), Quevenne[10]), C. Schroff[11]), Hardy[12]), Bergeron und Lemaître[13]), Woronichin[14]), Nasse[15]), Lor. Scherpf[16]), glaubte, gestützt auf seine Untersuchungen, den Uebergang des innerlich gegebenen Eisens in den Säftestrom und die Ausscheidung durch den Harn behaupten zu dürfen.

Schon Costes[17]) war es aufgefallen, dass kleine Dosen von Eisenpräparaten nicht resorbirt zu werden schienen,

---

[1]) Wöhler: Tiedemann's Zeitschr. f. Physiol., Bd. I, S. 302, 1824.

[2]) Vetter: C. W. Hufeland's Journal f. practische Heilkunde, Bd. LXXXV, 3 Stück, S. 103.

[3]) C. F. Müller: Ueber Vorkommen von Eisen im Harn etc., Dissert.-Inaug., Erlangen 1882.

[4]) Gélis: Journal d. Pharmacie, tome 27, p 261, 1841.

[5]) Kletzinsky: Zeitschr. d. k. k. Gesellsch. der Aerzte z. Wien, Jahrg. X, Bd. II, S. 281, 1854.

[6]) Becquerel: Semeiotique des urines, Paris, Masson et Comp., édit. 1841, p. 120.

[7]) Herberger: Büchner's Repert. f. d. ges. Physiol., Bd. XXIX, S. 236, 1843.

[8]) Heller: Heller's Archiv, Bd. IV, S. 139, 1847.

[9]) Aug. Mayer: l. c.

[10]) Quevenne: Bulletin de Thérapeutique, tome XLVII, p 229, 1854.

[11]) Carl Schroff: Lehrbuch d. Pharmacologie, Wien 1856, S. 156.

[12]) Hardy: Gazette médicale de Paris, 3 Série, tome 18, p. 462, 1863.

[13]) Bergeron et Lemaître: Archiv. genéral. de médecine, 6 Série. tome II, p. 173, 1864.

[14]) Woronichin: Zeitschrift d. k. k. Gesellsch. d. Aerzte zu Wien, Jahrg. 24, S. 159, 1868.

[15]) Nasse: Sitzungsberichte d. Gesellsch. z. Beförd. der Naturwissensch. z. Marburg, Jahrg. 1877, S. 44.

[16]) Lor. Scherpf: l. c.

[17]) Costes: Journal de médecine de Bordeaux, 12 année, p. 277, 1854.

während nach grossen Dosen deutliche Eisenausscheidung im Urin zu beobachten war, aber erst Hamburger[1]), Kobert[2]), Cahn[3]), die beiden Letzteren bei ihren Untersuchungen über die Resorption der Mangansalze, konnten die Erklärung dafür geben. Sie fanden nämlich, dass Mangansalze erst resorbirt werden, wenn die Magen- und Darmschleimhaut etwas angeätzt ist, dass ein gesunder Verdauungstractus aber nachweisbare Mengen dieser Salze nicht zu resorbiren im Stande ist. Es wird dadurch wahrscheinlich, dass die Eisensalze sich ebenso verhalten.

Ueber die Resorbirbarkeit organischer Eisenverbindungen liegen bis jetzt keine genauen quantitativen Analysen vor. Wohl haben Hardy, Nasse, Mayer mit Verbindungen des Eisens mit organischen Säuren operirt und wohl hat Scherpf mit einem von ihm aus Eiereiweiss und Eisenchlorid künstlich hergestellten Eisenalbuminat seine Versuche angestellt; aber genaue Untersuchungen über die Resorption der in unserer gewöhnlichen Nahrung enthaltenen albumin- und nucleïnartigen Eisenverbindungen sind noch nicht gemacht.

Um diese Lücke womöglich auszufüllen, wurde diese Arbeit unternommen, und ihr Zweck ist, am Verhalten des von Bunge[4]) beschriebenen Eisennucleïns des Eidotters im Körper einiges Licht auf die Frage der Resorbirbarkeit organischer Eisenpräparate und des Eisens überhaupt zu werfen. Dass die gestellte Aufgabe nicht ganz glatt ist gelöst worden und dass im Verlauf der Arbeit auch einige der eigentlichen Frage ferner liegende Punkte eingehender sind berührt worden, erklärt sich aus den erst bei der Untersuchung selbst sich ergebenden grossen ungeahnten Schwierigkeiten.

Auf den ersten Blick erscheint es, als ob die Frage nach der Resorbirbarkeit des Eisennucleïns oder Hämatogens

---

[1]) Hamburger: Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. II, S. 191, 1878.

[2]) Kobert: Archiv f. experimentelle Pathol. u. Pharmacol., Bd. XVI, S. 378, 1883.

[3]) Cahn: Archiv f. experimentelle Pathol. u. Pharmacol., Bd. XVII, S. 141, 1884.

[4]) Bunge: Ueber Assimilation des Eisens, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 49, 1885.

höchst einfach zu lösen sei, durch Eingeben bekannter Quantitäten des Stoffes und durch Bestimmen der durch Harn und Fäces ausgeschiedenen Eisenmengen.

Einfach und entscheidend scheint dieser Versuch zu sein, ganz klare und entscheidende Resultate werden aber auf diesem Wege leider nicht erreicht. Die eingegebenen Eisenmengen sind beim Verbrauch auch vieler Eidotter immer noch so gering, die unvermeidlichen Versuchsfehler sind so bedeutend, dass die Hoffnung, klare Resultate zu erhalten, getäuscht wird.

Es wurde zwar versucht, durch getrennte Bestimmung des in anorganischer und des in organischer Verbindung in den Fäces ausgeschiedenen Eisens der Lösung der Frage näher zu treten. Im Eidotter sind nach den Untersuchungen von «Bunge»[1]) nur organische Eisenverbindungen enthalten. Hätte man im Kothe alles eingegebene Eisen als organische Verbindung wieder gefunden, so wäre die Frage nach der Resorbirbarkeit der Eisenverbindungen in negativem Sinne entschieden gewesen. Würde man dagegen Alles als anorganische Verbindung wiederfinden, so wäre die Frage offen, ob man es mit unresorbirtem und durch die Verdauungssäfte im Darmkanal aus seinen Verbindungen mit organischen Stoffen herausgelöstem Eisen, oder ob man es mit resorbirtem und in den Darm wieder ausgeschiedenem Eisen zu thun hat. Um dies zu entscheiden, wurden künstliche Verdauungsversuche angestellt und es ergab sich als Resultat, dass aus Hämatogen weder durch Magensaft, noch durch Galle, noch durch Pancreasferment[2]) Eisen abgespalten wird. Folglich muss das in den Fäces auftretende anorganische Eisen entweder fremdes Eisen sein oder resorbirtes und in den Darm wieder ausgeschiedenes Eisen. Es sei denn, dass durch Fäulnissbacterien im Darm das Eisen abgespalten wird.

---

[1]) Bunge: l. c.

[2]) Um reines und sehr wirksames Pancreasferment in sehr haltbarer Form darzustellen, verfährt man am besten nach der Methode von Kühne. Kühne: Verhandl. d. naturhist.-medizin. Vereins z. Heidelberg, N. F., Bd. III, S. 463, 1886.

Von 3 Versuchen, bei welchen nach Eingabe einer bekannten Eisenmenge als Hämatogen die Eisenausscheidung in Harn und Fäces bestimmt wurde, ist leider nur einer vollständig gelungen; bei den beiden anderen überstiegen die Ausgaben an Eisen die Einnahmen ganz bedeutend.

Immerhin sind doch bei zwei Versuchen sehr wägbare Mengen, bei einem dritten sehr deutliche Spuren von Eisen im Harne gefunden worden. Wir werden gleich sehen, dass das Auftreten von grossen Eisenmengen im Urin als Beweis für die Resorbirbarkeit des Hämatogens zu betrachten ist.

Untersuchungen über den Eisengehalt des normalen Harnes sind schon eine ganze Menge veröffentlicht worden; dieselben haben aber zu keiner Einigung in der Frage geführt; wir finden in der Litteratur zwei ganz verschiedene, sich widersprechende Ansichten vertreten. Die erste Ansicht, welche hauptsächlich von Becquerel[1]), Herberger[2]), Lehmann[3]), Schroff[4]), Schlemmer[5]), Parisot[6]) vertheidigt wird, geht dahin, das Vorkommen von Eisen im Harn überhaupt zu leugnen, die andere, welche von Wöhler[7]), Donné[8]), Simon[9]), Fleitmann[10]), Aug. Mayer[11]), Bidder und Schmidt[12]), Lehmann[13]), Viale und Lantini[14]), Harley[15]),

---

[1]) Becquerel: l. c.

[2]) Herberger: l. c.

[3]) Lehmann: Lehrbuch der physiol. Chemie, Leipzig, Engelmann Bd. II, S. 251, 1853.

[4]) Schroff: l. c.

[5]) Schlemmer: Seine Analysen, mitgetheilt von Maly, finden sich: Annalen d. Chemie u Pharmacie, Bd. CLXIII, S. 92, 1872.

[6]) Parisot: Gazette des hôpitaux, 1863, p. 383.

[7]) Wöhler: l. c.

[8]) Donné: Comptes rendus, tome XII, 1841.

[9]) Simon: Medizinische Chemie, Bd. II, S. 346, 1842.

[10]) Fleitmann: Poggendorf's Annal., Bd. 76, S. 376, 1849.

[11]) Aug. Mayer: l. c.

[12]) Bidder u. Schmidt: Verdauungssäfte u. Stoffwechsel, Leipzig 1852, S. 411.

[13]) Lehmann: l. c.

[14]) Viale et Lantini: Union médicale, tome IX, p. 186, 1855.

[15]) Harley: Verhandl. d. mediz.-physik. Gesellsch. zu Würzburg, Bd. V, 1855.

Zimmermann[1]), Magnier[2]), Dietl und Heidler[3]), Hamburger[4]), Rosenthal[5]), Zuelzer[6]), Neubauer und Vogel[7]), C. F. Müller[8]) gestützt wird, spricht dem normalen Harn stets Eisen, theilweise sogar in ganz bedeutenden Quantitäten, zu.

So wenig ich nun, gestützt auf meine sehr zahlreichen Untersuchungen, der ersten Gruppe von Gewährsmännern beizustimmen vermag, ebenso wenig kann ich die von Bidder und Schmidt, von Magnier, von Dietl, von Zimmermann etc. angegebenen Zahlen für richtig halten. Nach meinen Untersuchungen, die an filtrirtem Harne nach der weiter unten beschriebenen Einäscherungsmethode angestellt sind (filtrirt muss der Harn werden, weil stets eisenhaltige Epithelzellen darin enthalten sind), enthält der normale Harn bei gewöhnlicher Nahrung meistens Spuren von Eisen; von einer quantitativen Bestimmung dieser Mengen kann aber keine Rede sein, es sind stets nur qualitativ nachweisbare Spuren. Es scheint, dass diese geringen Mengen von Zeit zu Zeit fehlen können, und so wird wahrscheinlich die Meinung, dass kein Eisen im Harn enthalten sei, entstanden sein. Becquerel, Lehmann sagen ausdrücklich, dass sie oft Eisen gefunden, in der Mehrzahl der Fälle es aber vermisst hätten. Wenn man aber Eisen findet, so sind es, ich betone es ausdrücklich, stets nur geringe Spuren.

Werden nun nach Eidotternahrung im Harne in dem einen Falle 12, in einem zweiten 7 Milligramm, in einem

---

1) Zimmermann: Schmidt's Jahrbücher, Bd. 104, S. 288.

2) Magnier: Berichte der deutsch. chemisch. Gesellsch, Bd. VII, S. 1796, 1874.

3) Dietl u. Heidler: Sitzungsber. d. k. k. Akademie der Wissensch. zu Wien, III. Abth., Mathemat.-naturw. Classe, Bd. LXXI, S. 420, 1875.

4) Hamburger: Vierteljahrssch. f. practisch. Heilkunde, herausg. v. d. med. Facult. z. Prag, Jahrg. 33, Bd. II (Bd. 130), S. 145, 1876.

5) Rosenthal: l. c.

6) Zuelzer: Untersuchungen üb. d. Semiologie d. Harns, S. 14, Berlin 1884.

7) Neubauer u. Vogel: Anleitung z. quant. u. qual. Analyse des Harns, Wiesbaden, Kreidel's Verlag, 1881, S. 112.

8) C. F. Müller: l. c.

dritten wenn auch nicht wägbare, so doch sehr deutliche Mengen, jedenfalls viel mehr als gewöhnlich (circa 3—4 Milligramm $FePO_4$) gefunden, so ist dies ein Umstand, der für die Resorption des Hämatogens absolut beweisend ist.

Wenn man noch hinzunimmt, dass in dem einen Falle die Menge des in dem Kothe ausgeschiedenen Eisens um 0,0107 gr. geringer war, als die Menge des eingenommenen Eisens, und dass bei diesem selben Versuche 12 Milligramm Eisen durch den Harn ausgeschieden wurden, also jedenfalls vom Darm aus hatten resorbirt werden müssen, so wird die Bejahung der Frage nach der Resorbirbarkeit des Hämatogens wohl gerechtfertigt erscheinen.

Leider überwog in den beiden andern Versuchen die Menge des ausgeschiedenen Eisens bedeutend die Menge des eingegebenen. Schon Forster[1]) und Dietl[2]) hatten mit diesem Uebelstande zu kämpfen.

Eine befriedigende Erklärung für diese Erscheinung lässt sich vor der Hand nicht geben. Wie ein in einem eisenfreien Käfig eingesperrter Hund zu anderem Eisen kommt, als zu dem in der Nahrung enthaltenen, ist unerklärlich. Man kann denken, dass eisenhaltige Nahrungsmittel von früher her in irgend einem Theile des Darmkanals liegen geblieben sind und unglücklicher Weise sich zufällig gerade dem Versuchskoth beigemengt haben (eine Erklärung, die nicht so unwahrscheinlich klingt, wenn man weiss, dass Stroh 8 Tage und noch länger im Hundedarme verweilen kann), oder dass die Haare, mit welchen der Koth durchsetzt war, Eisen genug enthielten, um bei dem geringen Eisengehalt der Eidotter einen solchen Fehler zu bewirken, oder endlich dass das Eisen von den im Verdauungskanal sich abstossenden Epithelzellen und den sich darein ergiessenden Verdauungssäften herstammt. Es sind dies Alles Erklärungsversuche, aber keine Erklärungen, und wir müssen eingestehen, dass wir nicht wissen, woher dieser Eisenüberschuss herstammt.

---

[1]) Forster: Zeitschrift f. Biologie, Bd. IX, S. 297, 1873.
[2]) Dietl: l. c.

Es muss also gesucht werden, die durch die Harnanalyse gefundenen Resultate auf einem andern Wege durch andere Resultate zu bekräftigen. Deswegen wurde noch folgender Versuch angestellt.

Wenn es gelingt, kleine Thiere, z. B. Mäuse, mit einer Nahrung, in welcher Hämatogen enthalten ist, länger zu erhalten, als Mäuse, welche unter absolut den gleichen Bedingungen, aber ohne eine Spur von Eisen leben, oder als Mäuse, welche unter denselben Bedingungen, aber mit irgend einer andern organischen oder anorganischen Eisenverbindung existiren, so ist die Frage glatt und ohne möglichen Einwand entschieden.

Den Mäusen eine künstliche Kost zusammenzustellen, welche eisenfreies Eiweiss, eisenfreies Fett, eisenfreie Kohlehydrate, endlich die anorganischen Salze im selben Verhältniss zum Eiweiss wie die Milch enthält, ist möglich; möglich ist ferner, die Thiere in eisenfreien Käfigen unter günstigen Bedingungen für ihre Existenz zu halten. Unmöglich aber ist es, die Mäuse bei dieser künstlichen Nahrung längere Zeit am Leben zu erhalten.

Alle mit dieser zusammengesetzten Kost gefütterten Thiere starben nach ungefähr gleich langer Zeit, sie mochten das Eisen zugefügt erhalten haben als Hämatogen, Hämoglobin oder Eisenchlorid; diejenigen, welche absolut kein Eisen erhalten hatten, lebten gerade so lang, starben gerade so schnell. Diejenigen Mäuse aber, welche unter den gleichen äusseren Bedingungen mit Eidotter waren gefüttert worden, lebten beliebig lange Zeit.

Es verdient hervorgehoben zu werden, dass in der dargereichten Nahrung alle Stoffe vertreten waren, welche uns als zum Leben nothwendig bis heute bekannt sind, und zwar in denjenigen nummerischen Verhältnissen, welche als die zum Leben nothwendigen bis jetzt experimentell sind festgesetzt worden; Eiweiss, Fett und Kohlehydrate in demjenigen Verhältniss, wie sie in der Kost eines arbeitenden Menschen nach Voit und nach Forster vertreten sind, die nach Lunin[1]) zum

[1]) Lunin: Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. V, 1881, S. 31.

Leben nothwendigen anorganischen Salze in demselben Verhältniss, wie sie in der gewiss eine genügende Nahrung darstellenden Milch enthalten sind, Wasser, alles in genügender Menge, und trotzdem starben sie mit und ohne Eisen in der gleichen Zeit.

Sie starben aber auch nach ungefähr der gleichen Zeit wie die Mäuse, welche Lunin, mit einer ganz anders zusammengesetzten, aber auch künstlichen Nahrung gefüttert hatte; und auch bei Lunin lebten Mäuse, welche er mit natürlicher Nahrung unter den gleichen äusseren Bedingungen gehalten hatte, beliebig lange Zeit.

Es scheint also, dass wir zur Stunde noch nicht alle zum Leben nothwendigen Stoffe kennen und dass, da der eine, der vielleicht nur in ganz geringer Quantität vorhanden zu sein braucht, fehlt, die übrigen nach dem bekannten Gesetz des Minimums von Liebig[1]) nicht verwerthet werden können.

Für diese Annahme spricht der Umstand, dass die Mäuse bei ihrem Tode stets, alle ohne Ausnahme, bedeutend an Gewicht verloren hatten. Man könnte daran denken, dass dieser mangelnde Stoff vielleicht eine Eiweissverbindung sei, und dass das in beiden Versuchsreihen dargereichte Eiweiss nicht alle nothwendigen Eiweissarten enthalten habe.

Wie dem auch sei, in der Milch und im Eidotter ist dieser oder diese fehlenden Stoffe sicherlich enthalten und sie dort zu suchen und zu finden, ist die erste Aufgabe, die man sich stellen muss, bevor man neue Fütterungsversuche veranstalten kann.

Der naheliegende Einwand, dass die Mäuse mit der künstlichen Nahrung deswegen früher zu Grunde gegangen seien als die mit der natürlichen, weil ersteren die Nahrung nicht geschmeckt und sie deswegen zu wenig gefressen hätten, erscheint mir nicht berechtigt, weil sie thatsächlich bis zu ihrem Tode begierig frassen (confer. Seite 131).

Für die Lösung der Frage nach der Resorbirbarkeit des Eidottereisens haben diese Versuche nur in so weit Werth,

---

[1]) J. Liebig: Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agricultur u. Physiolog., Aufl. 9, 1876, S. 332.

als es kaum anzunehmen ist, dass Mäuse bis zu 100 Tagen mit Eidotternahrung leben und an Gewicht zunehmen können, ohne Eisen zu resorbiren. Im Eidotter finden sich aber nach Bunge keine anderen Eisenverbindung als organische, folglich müssen solche resorbirt worden sein.

Ein sehr exacter Beweis dürfte dies aber wohl kaum zu nennen sein.

Es wäre zu wünschen, dass die Versuche an jungen, noch im Wachsthum begriffenen Thieren wiederholt würden. Denn wenn ein Thier sein Körpergewicht verdoppelt und verdreifacht, ohne andere Eisenverbindungen zu erhalten als die des Eidotters, so kann die Resorption der letztern nicht bezweifelt werden.

Ich darf mir am Schlusse dieser kurzen Zusammenfassung der weiter unten angeführten Versuchsresultate wohl gestatten, zu bemerken, dass die Frage nach der Resorbirbarkeit des Hämatogens durch den einen glücklich abgelaufenen Fütterungsversuch, durch die Resultate der Harnanalyse und auch etwas durch den Versuch mit den Mäusen höchst wahrscheinlich in bejahendem Sinne zu beantworten ist.

Methode der Eisenanalysen.

Da es sich in vorstehender Arbeit bei allen Eisenanalysen um den Nachweis von Eisen als organische Eisenverbindung oder von anorganischen Eisenverbindungen in Gesellschaft mit organischen Stoffen handelte, wurde stets die Methode der Einäscherung angewandt, wie sie von Bunge[1]) und Behagel[2]) für den Nachweis anorganischer Substanzen in organischen Verbindungen ist eingeführt worden. Handelte es sich um quantitative Untersuchungen, so wurde, um die Bildung von Pyrophosphorsäure zu vermeiden, kohlensaures Alkali und zwar nach Behagel Na_2CO_3 zugegeben, bei

[1]) Bunge: Der Kali-, Natron- und Chlorgehalt der Milch vergl. etc. etc., Zeitschrift für Biologie, Bd. X, 1874, S. 295.

[2]) Behagel von Adlerskron: Ueber d. Bestimmung des Cl und der Alkalien etc. etc., Zeitschr. für analytische Chemie, Bd. XII, 1873, S. 390.

blos qualitativen Analysen wurde diese Vorsichtsmassregel als überflüssig gewöhnlich weggelassen.

Der Gang der Analysen war kurz folgender:

Die organische Substanz (Harn, Koth, Eidotter, Serum, Zucker etc.) wird in einer durch Schmelzen von saurem schwefelsaurem Kalium und nachheriges Auswaschen mit heisser destillirter Salzsäure gereinigten Platinschale mit Natriumcarbonatlösung versetzt bis zur deutlich alkalischen Reaction, dann wird nochmal das gleiche Quantum Sodalösung zugegeben. Ist der Stoff von Anfang an alkalisch, so wird auf 100 gr. circa 0,5—1 gr. Na_2CO_3 zugesetzt.

Das Gemisch wird auf dem Wasserbad unter häufigem Umrühren so weit wie möglich eingedampft, im Trockenkasten bei circa 120° getrocknet; es gelingt auf diese Weise, alle Substanzen, ausser eingedampftem Harn, vollständig zu trocknen, Harn bleibt auch so eine dickflüssige, in der Kälte erstarrende Masse[1]).

Die trockene Substanz wird mit einem Bunsen'schen Brenner bei beginnender Rothgluth verkohlt, und zwar beginnt man am besten am obern Rand des Gefässes und steigt langsam zum Boden herab; auf diese Weise wird das gefährliche Ueberschäumen und Ueberquellen einzelner Substanzen gänzlich vermieden.

Ist keine weitere Verbrennung mehr wahrzunehmen, so wird die Kohle mit heissem Wasser ausgelaugt, durch ein aschenfreies Filter filtrirt, ausgewaschen, Filter und Kohle in das Platingefäss zurückgegeben, auf dem Wasserbad eingedampft und im Trockenkasten vollends getrocknet.

Der Wasserauszug wird in zwei Theile getheilt, in der einen Hälfte wird durch Zusatz von NH_3 und $(NH_4)_2S$ auf anorganisches Eisen, in der andern durch Uebersättigen mit Salzsäure und Zugeben von Eisenchlorid auf etwa entstandene Ferrocyansalze geprüft. Es mag hier gleich erwähnt sein, dass nie anorganisches Eisen im Auszug ist gefunden worden

---

[1]) Hoppe-Seyler: Handb. der physiolog.- und patholog.-chem. A. 5, 1883, S. 345.

und dass bei den vielen Analysen, die gemacht worden sind, nie die Bildung von Eisencyanverbindungen ist beobachtet worden.

Auch Behagel[1]), der auf diesen Punkt speciell achtete, fand bei Einäschern mit Soda nie Cyanverbindungen.

Die vollständig trockene Kohle mit dem Filter wird nun vollends eingeäschert, was immer sehr gut gelingt; die Asche wird mit heissem Wasser und verdünnter destillirter Salzsäure aufgenommen, wieder eingedampft und bei aufgelegtem Deckel vorsichtig auf circa 110° erwärmt; die allenfalls gelöste Kieselsäure fällt bei diesem Verfahren aus und wird unlöslich.

Die Asche wird zum zweiten Male in möglich wenig Wasser und etwas Salzsäure gelöst, durch ein aschenfreies Filter filtrirt, ausgewaschen; das Filtrat wird mit Ammoniak ein wenig abgestumpft und nach Erkalten das Eisen durch essigsaures Ammon als phosphorsaures Eisen gefällt.

Der flockige Niederschlag wird in bedecktem Glas circa 12 Stunden zum Absetzen hingestellt, durch ein aschenfreies Filter filtrirt, mit kaltem H_2O ausgewaschen, bis das Wasser chemisch rein abläuft, im Trockenkasten bei 120° getrocknet; der Niederschlag vom Filter möglich entfernt, das Filter in einem Porzellantiegel verbrannt, der Niederschlag dazu gegeben und geglüht, dann gewogen.

Nach dem Wägen wird in verdünnter Salzsäure gelöst, auf dem Dampfbade eingeengt, bis die Hauptmasse der Salzsäure verflüchtigt ist, mit Schwefelsäure aufgenommen, mit Zink reducirt und mit Chamäleonlösung titrirt.

Die Zahlen, die durch Wägen erhalten wurden, stimmen mit den durch Titriren gefundenen so gut überein, dass nur die ersteren hier angegeben sind, um Wiederholung zu vermeiden.

Des Fernern mag noch erwähnt werden, dass alle Filtrate, insonderheit das letzte, nach Abfiltriren des mit essigsaurem Ammon entstandenen Eisenniederschlages erhaltene, auf etwa durchgegangenes Eisen sind geprüft worden und dass

---

[1]) Behagel: l. c., S. 398.

in keinem einzigen Falle Eisen ist gefunden worden; ein Beweis dafür, dass bei Zusatz von Natroncarbonat keine Pyrophosphorsäure sich bildet.

Genauere Beschreibung der Versuche an Hunden.

Als Versuchsthiere wurden Hunde gewählt; dieselben befanden sich während der ganzen Versuchszeit in einem grossen luftigen, innen mit Zinkblech ausgekleideten, oben mit stark mit Oelfarbe angestrichenen Eisenstäben verschlossenen Behälter. Der Käfig stand in einem warmen Zimmer. Das Innere des Käfigs konnte sehr rein gehalten werden, besondere Aufmerksamkeit wurde den Eisenstäben oben gewidmet, während der ganzen Versuchszeit wurde nirgends die schützende Farbhülle von den Hunden weggenagt.

Die Hunde beschmutzten übrigens ihren Käfig nie; sie waren gelehrt worden, ihren Harn an einer bestimmten Stelle des mit Parquetboden versehenen Zimmers in ein untergehaltenes Porzellangeschirr, ihren Koth auf einen untergehaltenen Teller zu entleeren.

Auf diese Weise war thunlichst dafür gesorgt, dass die Thiere nicht irgend woher fremdes Eisen bekommen konnten (durch Auflecken von eisenhaltigem Sand, Staub etc.).

Zur Abgrenzung des Kothes wurden nach Voit[1]) Knochen benützt; der gelbe Eierkoth liess sich meistens gut von dem weisslichen, noch mit Knochenstückchen durchsetzten Knochenkoth trennen.

Versuch I.

Grosser kurzhaariger Hund.

Er bekommt während 24 Stunden möglichst reine Knochen zu fressen, darauf im Verlauf von 2 Tagen 100 Eidotter, die ersten frisst er gern, die letzten Portionen müssen ihm eingegeben werden. Am 4. Tage bekommt er wieder Knochen.

Der Hund verträgt die Eidotter anfangs gut, erst am Ende des dritten Tages tritt Diarrhoe auf, so dass die

---

[1]) Hermann: Handbuch der Physiologie, Bd. VI, S. 30.

Trennung des Eierkothes vom zweiten Knochenkoth nicht sehr gut gelingt; es wird aber eher von Knochenkoth noch etwas mitgenommen, als dass Eierkoth verloren gegangen wäre.

Die 100 Eidotter werden möglichst vom Eiweiss getrennt, unter einander gerührt, bis alles zu einer homogenen Masse geworden ist; sie wiegen

1595 gr.

Davon werden zur Bestimmung des Eisengehaltes in eine Platinschale abgewogen

50,45 gr.

Die Untersuchung auf Eisen wird in der oben beschriebenen Weise ausgeführt; im Wasserextract findet sich absolut kein Fe; ebenso wenig im Filtrat, erhalten nach Abfiltriren des Eisenniederschlages.

Gefunden wird

0,016 $FePO_4$ = **0,0059** Fe.

In 50,45 gr. Eidotter . . . 0.0059 gr. Fe.
In **1544,55** » » also . **0,1807** » Fe.

Der Hund hat also im Verlauf von zwei Tagen

0,1807 gr. Fe

bekommen.

Davon findet sich:

a) im Harn.

Der Harn wird gesammelt, nach der ersten Fütterung mit Eidotter, bis unmittelbar vor der zweiten Fütterung mit Knochen. Im Ganzen sind es 2800 cm^3. sauren dunklen Harns.

Der Harn wird filtrirt und nach der oben angegebenen Methode eingeäschert; Wasserauszug der Kohle absolut eisenfrei; ebenso das Filtrat nach Abfiltriren des Eisenniederschlages. Es findet sich

0,0818 $FePO_4$ = **0,0116** gr. Fe.

Also sind resorbirt worden und durch die Nieren wieder ausgeschieden **0,0116** gr. Fe.

b) Im Koth.

Die ersten Portionen sind fest, dunkelgelb, die spätern dickflüssig, hellgelb und stinkend, leider ist der Koth mit aus dem Darm des Hundes stammendem Stroh durchsetzt; die

Trennung der letzten Portion vom zweiten Knochenkoth gelingt nicht untadelhaft.

Der Koth wird zur Entfernung des Fettes in einem Ballon mit absolutem Alkohol ausgezogen; die Auszüge, in einer Platinschale eingeäschert, erweisen sich, wie zu erwarten, als eisenfrei.

Zur Trennuug der im Koth enthaltenen anorganischen Eisenverbindungen von den organischen wird der Koth mit absolutem Alkohol, dem etwas Salzsäure zugesetzt ist (950 cm^3. Alkohol + 50 cm^3. 33 % HCl), ausgezogen. Die dunkelgrünen Auszüge (wohl durch Biliverdinbildung) werden vereinigt und in oben angegebener Weise eingeäschert; weder im Wasserauszug der Asche, noch im Filtrat vom phosphorsauren Eisen findet sich Eisen.

Es wird gefunden im Koth als anorganisches Eisen

0.1847 gr. $FePO_4$ = **0,0499** Fe.

Der Kothrückstand wird in einer Platinschale wie gewöhnlich eingedampft, eingeäschert etc. Wasserauszug und letztes Filtrat eisenfrei.

Es findet sich

0,2791 $FePO_4$ = **0,1085** Fe.

Also waren im Koth enthalten als Eisen in organischer Verbindung **0,1085** Fe.

Zusammenstellung.

Eingegeben in 1544 gr. Eidotter

0,1807 gr. Fe.

Davon sind erschienen:

A. Im Harn	. . . .	0,0116 gr. Fe,
B. Im Koth: anorganisch	. .	0,0499 » »
organisch	. . .	0.1035 » »
	Summa .	**0.1650** gr. Fe.

Es sind also im Körper zurückgeblieben und nicht mehr nachzuweisen 0,0157 gr. Fe. Ob dieses Eisendeficit resorbirt und im Körper verwandt worden ist, oder ob es blos im

Darm liegen geblieben ist, kann nicht entschieden werden; jedenfalls aber sind die 12 Milligramm, welche im Harn erschienen sind, resorbirtes Hämatogen.

Versuch II.

Grosser kurzhaariger Hund.

Der Hund wird längere Zeit bei gewöhnlicher Kost eingesperrt, um die im Darm zurückgebliebenen unverdaulichen Reste früherer Nahrung zu entfernen, er bekommt, wie im Versuch I, am Tag vor und nach der Eidotterfütterung behufs Kothabgrenzung Knochen zu fressen. Um das Eintreten der Diarrhoen zu vermeiden, werden diesmal nur 50 Eidotter verfüttert; aber trotz dieser Vorsichtsmassregel bekommt der Hund sehr heftigen Durchfall, so dass die Trennung vom zweiten Knochenkoth noch weniger gut gelingt als das erste Mal.

Sonst wird der Versuch angestellt wie Versuch I.

Die 50 Eidotter wiegen 860 gr. Davon werden in eine Platinschale behufs Eisenbestimmung abgewogen

55,22 gr.

Verfüttert werden also

804,78 gr.

Eidotterbrei.

Die Eisenanalyse in dem abgewogenen Theil des Eidottergemisches wird in der oben angegebenen Weise ausgeführt; Wasserauszug eisenfrei.

Gefunden wird

0,0100 $FePO_4$ = 0,0087 Fe.

In 50,22 gr. Eidotter . . . . . 0.0037 Fe.
In 804,78 » » . . . . . 0,0589 Fe.

Von dieser in zwei Tagen aufgenommenen Eisenmenge erscheint wieder

a) im Harne.

Der Harn wird während der ganzen Zeit der Eidotterfütterung und noch 24 Stunden nach dem letzten Eidotterfrass gesammelt.

Dunkler saurer Urin, wird filtrirt und behandelt wie in Versuch I. Im Wasserauszug und im letzten Filtrat kein Eisen.

Nach vorsichtigem Abstumpfen der wie oben beschrieben, mit HCl bereiteten Aschelösung und Versetzen mit essigsaurem Ammon entsteht eine schwache opalisirende Trübung, die sich bis zum nächsten Tage am Boden des Gefässes als dünne Schichte absetzt; da es für eine genaue Wägung zu wenig ist, wird vom Abfiltriren und Wägen Umgang genommen; dass der Niederschlag wirklich Eisen ist, giebt der Zusatz von Schwefelammon deutlich zu erkennen.

Im Harn sind also deutliche Spuren von Eisen vorhanden.

b) Im Kothe.

Der dünne, gelbe, strohfreie, aber stark mit Haaren durchsetzte Koth ist sehr schwer vom Knochenkoth zu trennen; es ist leicht möglich, dass etwas Knochenkoth mit unter die Analyse gekommen ist.

Verfahren wird wie in Versuch I. Zuerst wird das Fett mit Alkohol absolutus extrahirt, darauf werden die anorganischen Eisenverbindungen mit salzsäurehaltigem Alkohol ausgezogen und zuletzt das als organische Verbindung enthaltene Eisen durch Einäschern des Rückstandes bestimmt.

Der das Fett enthaltende Auszug ist auch diesmal eisenfrei.

In anorganischer Form findet sich:
0,3428 gr. $FePO_4$ . . . . . **0,1270** gr. Fe.
In organischer Form:
0,2856 gr. $FePO_4$ . . . . . **0,1059** gr. Fe.
Im Ganzen werden also im Kothe ausgeschieden . . . . **0.2329** gr. Fe.
Eingegeben mit den Eidottern . . . **0.0589** gr. Fe.

Es findet sich also ein Ueberschuss von 0,1790 gr. Fe im Kothe vor.

Wegen der bei diesem Versuche eingetretenen starken Diarrhoen und des daraus resultirenden Unvermögens, den Koth genau abzugrenzen, ferner wegen des ganz unerklärlichen colossalen Eisenüberschusses in den Ausgaben gegenüber den Einnahmen wurde noch ein dritter Versuch angestellt.

Versuch III.

Mit grosser langhaariger Hündin.

Dieser Versuch wurde, um eine möglichst grosse Eidottermenge ohne Ernährungsstörungen verfüttern zu können und um die Ausnützung des dargereichten Futters möglichst zu steigern, über volle acht Tage ausgedehnt. Vor der Fütterung mit Eidotter bekam das Thier, um den Darm von unverdauten Resten möglichst zu befreien, während zweier, nach Verfütterung der Eidotter, um den Koth abzugrenzen, während eines Tages Knochen zu fressen. Der Hund nahm das Futter gern, er befand sich während der ganzen Versuchszeit wohl, nur am zweiten Tage bekam er vorübergehend leichten Durchfall. Der Harn wurde während der ganzen Zeit, in welcher das Thier Eidotter frass, gesammelt.

Die erste Eidotterportion (40 Stück) wog 630 gr. Davon wurden behufs Eisenbestimmung

64,97 gr.

abgewogen.

Die Eisenbestimmung wurde wie gewöhnlich vorgenommen, Wasserauszug der Kohle und letztes Filtrat eisenfrei.

Es findet sich

$$0{,}0090\ FePO_4 = 0{,}0038\ Fe.$$

Von der zweiten Eidotterportion im Gewicht von

930 gr.

wurden 67,16 gr. abgewogen, Wasserauszug der Kohle und letztes Filtrat eisenfrei. Es findet sich

$$0.0097\ FePO_4 = 0{,}0036\ Fe.$$

Der Hund hatte also an Eisen eingenommen

in 565,08 gr. Eidotter . . . 0,0290 gr. Fe,
in 862,84 » » . . 0,0449 » Fe,

im Ganzen also

in 1427,87 gr. Eidotter . . 0,0739 gr. Fe.

Die erste Eidotterportion wurde im Verlauf von 3, die zweite im Verlauf von 4 Tagen verfüttert.

Von der eingenommenen Eisenmenge im Gewicht von

0,0739 gr.

erschienen wieder

a) im Harne.

Der Harn wurde vom Momente der ersten Eidotterfütterung bis 24 Stunden nach der zweiten Knochenfütterung aufgesammelt. Die Menge beträgt im Ganzen 5810 cm^3., er ist sauer, dunkel und klar. Nachdem er wie gewöhnlich heiss filtrirt worden war, wird mit ihm in der oben beschriebenen Weise verfahren. Der Wasserauszug der Kohle und das letzte Filtrat sind beide eisenfrei.

Gefunden wird

0,0182 gr. $FePO_4$ = **0,0067** gr. Fe.

Diese Eisenmenge ist höchst wahrscheinlich aus den Eidottern resorbirt und im Harne wieder ausgeschieden worden.

b) Im Kothe.

Der Koth erschien in 4 Abtheilungen, am 2., 4., 6. und 9. Versuchstage, der am 9. Tage erschienene Koth enthielt schon theilweise die am 8. gefressenen Knochen. Der Koth war nur am 2. Tage etwas dickflüssig, sonst stets fest, gelb, leicht vom Knochenkothe abzugrenzen, strohfrei, aber mit sehr vielen Haaren vermischt.

Er wird behandelt wie die Fäces in den zwei oben beschriebenen Versuchen.

In dem das Fett enthaltenden Alkoholauszug ist nach dem Einäschern kein Eisen nachzuweisen.

Im Alkohol-Salzsäureauszug, also als anorganische Eisenverbindung, findet sich

0,1028 gr. $FePO_4$ = **0,0379** gr. Fe.

Als organische Eisenverbindung findet sich

0,8277 gr. $FePO_4$ = **0,3069** gr. Fe.

Es sind also gefunden worden im Kothe

0,0379 als anorganisches Eisen,
0,3069 als organisches Eisen.

Im Ganzen also **0,3448** Fe.
Eingegeben wurden **0,0739** Fe.

Also ein Ueberschuss von 0,2709 gr. Fe. Dazu kommt noch, dass im Harn ein Theil des eingegebenen Eisens ist

ausgeschieden worden, was das Total des Ueberschusses der Ausgaben über die Einnahmen auf die erstaunliche Höhe von

0,2776 gr. Fe

bringt. Dieser Eisenüberschuss kann nur von im Körper, d. h. im Darmkanal vorhandenem Eisen herrühren, denn es ist durch die Versuchsanordnung absolut ausgeschlossen, dass der Hund irgendwoher fremdes Eisen bekommen konnte. Es ist das Auftreten eines Ueberschusses von Eisen im Kothe eine Erfahrung, die auch andere Experimentatoren gemacht haben, ebenfalls ohne eine befriedigende Erklärung dafür zu finden.

Es sei an dieser Stelle gestattet, noch einige weitere Analysen über den Eisengehalt des Eidotters, die zu verschiedenen Zeiten und zu verschiedenen Zwecken angestellt wurden, mitzutheilen.

Es enthielten 100 gr. Eidotter

im Februar 88	0,0117 gr. Fe.
» » 89	0,0064 » »
» März 89	0,0080 » »
» Mai 88.	0.0100 » »
» Juni 88	0,0067 » »
» Juli 88	0.0072 » »
» September 88	0,0051 » »
» » 88	0,0052 » »

Es lässt sich der Gedanke, dass die Eier, je nachdem sie zur Fortpflanzungszeit oder zu einer andern Zeit gelegt worden sind, auch chemische Verschiedenheiten zeigen, nicht ganz von der Hand weisen. Nicht nur der Eisengehalt der Herbsteier, auch ihr Farbstoff- und Fettgehalt scheint vermindert zu sein. Schon His[1]) hat auf Grund histologischer Untersuchungen auf einen solchen Unterschied aufmerksam gemacht.

Weitere Untersuchungen auf diesem Gebiet dürften wohl interessante Ergebnisse liefern.

---

[1]) His: Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbelthierleibes, Leipzig, C. W. Vogel, 1868, S. 13.

Genauere Beschreibung der Versuche über den Eisengehalt des Harnes.

Zur Untersuchung gelangt Harn von einem Hund der mit gewöhnlicher Nahrung (Hundekuchen, Knochen etc.) genährt wird. Der Harn wird stets heiss filtrirt, um etwa entstandene Niederschläge von Uraten wieder in Lösung zu bringen. Vor dem Filtriren kann man im Microscop in jedem Harn spärliche Epithelzellen wahrnehmen, nach der Filtration ist es nie gelungen welche zu finden; es scheinen also hauptsächlich die suspendirten Epithelzellen und etwa vorhandener Schleim an der schlechten Filtration Schuld zu sein.

Versuch I.

850 cm^3. sauren dunklen Hundeharns werden bei circa 50° filtrirt, mit Na_2CO_3 versetzt und unter Beobachtung der oben beschriebenen Vorsichtsmassregeln eingeäschert. Der Wasserauszug der Kohle enthält keine Spur Eisen. Beim Versetzen der mit NH_3 abgestumpften salszsauren Aschelösung mit essigsaurem Ammon entsteht keine Trübung, es sind also keine quantitativ nachweisbaren Mengen von Eisen vorhanden.

Dass aber trotzdem schwache Spuren von Fe da sind, lehrt die ganz schwache grünliche Färbung nach Uebersättigen mit Ammoniak und Versetzen mit Schwefelammon.

Versuch II.

1000 cm^3. normalen dunklen sauren Hundeharns werden behandelt wie der Urin in Versuch I.

Auch diesmal lässt sich im Wasserauszug kein Eisen nachweisen.

Nach Zusatz von essigsaurem Ammon zu der salzsauren Aschelösung entsteht eine schwache opalisirende Trübung, bis zum andern Tag hat sie sich zu einem fast nicht wahrnehmbaren flockigen Niederschlage am Boden des Gefässes gesetzt. Von Abfiltriren und Wägen kann keine Rede sein.

Es ist also auch diesmal eine quantitativ nicht bestimmbare Spur von Eisen gefunden worden.

Versuch III.

1610 cm^3. normalen sauren dunklen Hundeharns werden wie die vorhergehenden Urine behandelt.

Wasserauszug absolut eisenfrei.

Beim Versetzen der Aschelösung mit essigsaurem Ammon tritt eine sehr schwache opalisirende Trübung auf, nach 24stündigem Stehen hat sie sich zu einem nur schwer wahrnehmbaren Niederschlage gesammelt, derselbe ist unwägbar.

Der Harn enthält quantitativ nicht bestimmbare Eisenmengen.

Dass die Niederschläge wirklich Fe enthielten, ergiebt sich aus ihrer Grünfärbung bei Zusatz von Schwefelammon.

Sehr oft wiederholte weitere Versuche in dieser Richtung mit filtrirtem Hunde- und Menschenharn haben stets dasselbe Ergebniss geliefert.

Es lässt sich an Hand dieser Versuche wohl sagen, dass filtrirter Harn bei gewöhnlicher Nahrung stets nur quantitativ unbestimmbare Mengen von Eisen enthält.

Genauere Beschreibung der mit den Mäusen angestellten Versuche.

Zu den Versuchen werden Mäuse genommen, weil:

1. die Maus ein kleines Thier ist und daher die Beschaffung der Nahrung für eine grössere Anzahl Versuchsthiere ohne allzu grosse Schwierigkeiten gelingt;
2. die Maus als omnivores Thier dem Menschen in seinen Ernährungsverhältnissen ziemlich nahe steht;
3. das gleichzeitige Halten selbst vieler Mäuse, jede in einem besonderen Käfig, nicht allzu viel Platz und Arbeit in Anspruch nimmt.

Einzeln müssen die Mäuse gehalten werden, weil in der Gefangenschaft die Stärkere die Schwächere zuweilen auffrisst, und man nie sicher ist, dass nicht der Versuch in unliebsamer Weise unterbrochen wird. Des Fernern mag erwähnt sein, dass nur Hausmäuse (Mus musculus) zu gebrauchen sind, die viel zahmern Feldmäuse (Arvicola arvalis) gehen nicht an die künstliche Nahrung, sie sterben lieber vor Hunger.

Als eisenfreie Käfige für die Thiere dienten grosse 18 cm. im Durchmesser haltende Glastrichter. In der Mitte des Trichters war eine Scheidewand aus Glas mit einer seitlichen Oeffnung; die eine Hälfte des Trichters war mit feinster, reiner Seidenwatte angefüllt, in der andern Hälfte befanden sich zwei kleine Porzellangeschirre für Nahrung und Wasser. Die Trichter standen auf grossen, leicht zu reinigenden Glasplatten. Durch leichtes Aufheben der wattefreien Seite des Trichters konnte sowohl die Nahrung und das Getränk alle Tage gewechselt werden, als auch die tägliche Reinigung, der durch Futter und Koth beschmutzten Glasplatte, vorgenommen werden. Die Futter- und Trinkgeschirre wurden alle Tage gereinigt, die Trichter alle acht Tage durch neue, mit frischer Watte gefüllte ersetzt.

Die Trichter standen während der ganzen Versuchsdauer in einem geschützten, stillen, Tags über durch schwarze Vorhänge verdunkelten Zimmer.

Da behauptet wird, dass Mäuse gegen Kälte sehr empfindlich sind, so war am Anfang versucht worden die Glasplatten, auf welchen die Käfige sich befanden, über grossen continuirlich auf 30° erwärmten Wasserbädern zu halten.

Es erwies sich aber diese Massregel als unnütz, ja als unpraktisch. Die Mäuse, welche bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gehalten wurden, gediehen weit besser; und es wurde auch bald von dieser immerhin sehr umständlichen Heizungsmethode Umgang genommen.

Der Grund, warum dieses Halten bei 30° schädlich ist, liegt in Folgendem:

Durch die grössere Wärme wird auch die Wasserverdunstung eine grössere, der Wasserdampf schlägt sich an den oberen kälteren Theilen des Trichters nieder, besonders im Rohr, und rinnt auf die Watte; dadurch wird diese und die darin hausende Maus beständig feucht. Gegen nichts aber sind die Mäuse so empfindlich wie gegen Nässe. Will man Mäuse bei guter Gesundheit in Gefangenschaft halten, so muss man, wenn man nur eine Spur von Nässe in dem

Käfig bemerkt, sofort Watte und Trichter wechseln, sonst geht die Maus unfehlbar im Lauf der nächsten zwei Tage, wahrscheinlich durch Kälte, zu Grunde.

Die Mäuse befanden sich bei Beobachtung der angeführten Vorsichtsmassregeln in diesen Käfigen sehr wohl, wie dies die sehr lange Zeit in bester Gesundheit lebenden Eidottermäuse wohl deutlich beweisen.

Sie pflegten sich in der Watte eine Art Nest mit verschiedenen Fluchtröhren zu bauen und sich beim geringsten Geräusch darein zurückzuziehen, so dass man, sicher vor Fluchtversuchen, die eine Seite des Trichters aufheben konnte. Einige wurden nach 10—14tägiger Gefangenschaft ganz zahm und zutraulich.

Um die Mäuse von einem Käfig in das andere zu bringen, hat sich nach vielfachen Versuchen folgendes Verfahren als das praktischste erwiesen:

Der Trichter wurde auf der Watteseite vorsichtig etwas aufgehoben und die Watte langsam und allmälig durch einen feinen Spalt herausgezogen, die Maus sozusagen aus der Watte herausgekämmt.

Unter den watteleeren Trichter wurde eine runde Glasplatte, die grösser als die Basis des Trichters war und am Rand einen seitlichen viereckigen Ausschnitt hatte, geschoben; der Ausschnitt über den Rand der Glasplatte, auf der die Trichter standen, hinausgeschoben, unter den Ausschnitt ein mit einer schwarzen Papierhülle umkleidetes cylindrisches Glasgefäss gebracht und der Rand des Trichters bis zum Rand der mit Ausschnitt versehenen runden Glasplatte vorgeschoben, so dass das Loch in der Platte innerhalb des Trichters liegt. Nun wird an den Trichter geklopft und durch den Lärm geängstigt geht die Maus nach längerer oder kürzerer Zeit in das ruhige, dunkle, ihr sicher erscheinende Schlupfloch. Das Glasgefäss wird mit einer kleinen Glasplatte bedeckt und die Maus ist in sicherem sauberem Gewahrsam.

In dieser Flasche wurden die lebenden Mäuse gewogen.

Um die Thiere in den gesäuberten, mit frischer Watte zur Hälfte gefüllten Trichter, ihren gewöhnlichen Käfig, zurückzubringen, wird der Trichter auf einen weiten Cylinder, das Rohr nach unten, aufgesetzt. Die mit seitlichem Ausschnitt versehene grosse Glasplatte darüber gedeckt, so dass der Trichter oben überall geschlossen ist und nur an der Stelle des viereckigen Ausschnittes eine Eingangspforte hat. Das mit schwarzem Papier umhüllte Glasgefäss wird umgekehrt und mit dem Hals auf den Ausschnitt aufgesetzt, die bedeckende, jetzt als Fussboden dienende Platte weggezogen und die schwarze Papierhülle entfernt. Durch die plötzliche Helle und durch eventuelles Klopfen unangenehm berührt, schlüpft die Maus durch Hals der Flasche und Ausschnitt der Glasplatte in den ruhigen Trichter und in die sichere Watte.

Die runde Glasplatte wird nun soweit verschoben, dass der viereckige Ausschnitt ausserhalb des Trichterrandes liegt, der Trichter auf der Glasplatte umgestülpt und auf die mittlerweile gereinigte grosse Glasplatte aufgesetzt; nun wird noch die runde Glasplatte weggezogen und die Maus befindet sich in einem saubern Käfig an ihrem ursprünglichen Platz.

Bei all diesen Manipulationen kommen die Thiere nur mit leicht zu reinigenden Glasgegenständen in Berührung, so dass jede Verunreinigung des Felles mit eisenhaltigem Staub etc. vollständig ausgeschlossen ist. Es ist diese Methode ausführlich beschrieben worden, weil sie bei anderen Versuchen, bei welchen es sich auch darum handelt, Thiere von einem Käfig in das andere zu transportiren, ohne dass sie dabei mit fremden Substanzen in Berührung kommen, gute Dienste leisten kann.

Es ist die praktischste und trotz ihrer scheinbaren Umständlichkeit einfachste, vor allen Dingen aber sicherste Methode, wie es sich durch vieles Hin- und Herprobiren zur Evidenz herausgestellt hat.

Hinsichtlich der Lagerwatte ist zu bemerken, dass sie den Mäusen als Aufenthaltsort sehr zusagt und sie hinreichend

gegen Abkühlung schützt. Gefressen wird sie von den Thieren nicht, was auch Lunin[1]) angiebt.

Bei circa 140 Maussectionen habe ich nur zweimal Watte im Darmtractus gefunden und beide Male war das Thier an der unverdaulichen, im Magen sich zusammenballenden Watte durch Verschluss des Pylorus alsbald gestorben.

Unter Beobachtung aller angeführten Vorsichtsmassregeln wird es jedermann bei einiger Aufmerksamkeit leicht gelingen, Mäuse längere Zeit hindurch bei vollkommenem Wohlbefinden in der Gefangenschaft zu erhalten.

Bereitung des Mäusefutters.

Es handelte sich bei der Bereitung des Mäusefutters vor Allem darum, eine vollständig eisenfreie Nahrung in genügender Menge darzustellen. Das Eisen konnte dann, wo es nöthig war, in verschiedenen Verbindungen zugesetzt werden.

Alle Versuche, eisenfreie Nahrung darzustellen, scheinen scheitern zu sollen an dem Umstand, dass es nicht gelingt, eisenfreies Eiweiss in genügender Quantität darzustellen.

Wohl haben Alexander Schmidt[2]) und Aronstein[3]) durch Dialyse aschenfreie Albuminlösungen aus Blutserum darzustellen geglaubt. Ihre Angaben sind aber alsbald von Heynsius[4]), Winogradoff[5]), Huinzinga[6]),

---

[1]) Lunin: Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. V, 1881, S. 31.

[2]) Alexander Schmidt: Pflüger's Archiv f. d ges. Physiol., Bd. VI, 1872, S. 423.

Alexander Schmidt: Beiträge zur Anatomie und Physiologie, als Festgabe gewidmet Carl Ludwig, Leipzig 1874, S. 94; siehe auch Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. XI, 1875, S. 1.

[3]) Aronstein: Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. VIII, 1874, S. 75.

[4]) Heynsius: Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. IX, 1874, S. 514; Bd. XII, 1876, S. 549.

[5]) Winogradoff: Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. XI, 1875, S. 605.

[6]) Huinzinga: Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. XI, 1875, S. 392.

Haas[1]) bestritten worden und die Letzteren haben nachgewiesen, dass in dem nach Schmidt's Methode dargestellten Eiweiss Aschenbestandtheile enthalten sind. Heynsius und Wingradoff fanden gewöhnlich nur Erdphosphate, aber Huinzinga und Haas gelang es in einzelnen Fällen, trotz langer Dialyse noch deutliche Spuren von Eisen in den Präparaten nachzuweisen. Es ist dies also jedenfalls eine nicht ganz zuverlässige Methode; ausserdem aber ist die Darstellungsweise viel zu umständlich. Es wäre eine baare Unmöglichkeit für eine grössere Anzahl von Mäusen durch Dialyse das genügende Quantum Eiweiss darzustellen.

Auch die Versuche Maschke's[2]) und Schmiedeberg's[3]) über Darstellung von krystallisirtem Eiweiss bringen uns leider Lösung dieser Frage nicht näher. Denn Wechsel[4]) und Grübler[5]), welche später diese Versuche wiederholten, haben nachgewiesen, dass die Asche dieser Eiweisskrystalle stets eisenhaltig ist. Auch hier wäre übrigens die Darstellungsweise sehr umständlich.

Es gelingt aber doch, auf verhältnissmässig einfachem Wege eisenfreies Eiweiss in beträchtlicher Menge darzustellen und zwar aus vollständig hämoglobinfreiem Blutserum. Vollständig reines Blutserum bekommt man aber nur aus Pferdeblut. Die Blutarten anderer Thiere (Rind, Schwein) scheinen viel leichter zerstörbare Blutkörperchen zu besitzen.

Aber auch aus Pferdeblut gewinnt man kein absolut hämoglobinfreies Serum, wenn man nicht folgendes Verfahren einschlägt.

Man muss das Blut in einer vollständig trockenen Flasche auffangen und die Flasche bis ganz oben voll laufen lassen. Thut man dies nicht, so schlägt sich das aus dem warmen

---

[1]) H. Haas: Prager medizinische Wochenschrift, Jahrgang I, 1876, S. 639, 659, 676.

[2]) O. Maschke: Botanische Zeitung, Jahrgang 17, 1859, S. 409 u. f.

[3]) Schmiedeberg: Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. I, 1877, S. 205.

[4]) Wechsel: Journal für prakt. Chemie, N. F., Bd. 19, 1879, S. 331.

[5]) Grübler: Journal für prakt. Chemie, N. F., Bd. 23, 1881, S. 97.

Blut verdunstende Wasser in kleinen Tröpfchen an der kalten Flasche nieder und rinnt in das Blut zurück, so werden einige Blutkörperchen zerstört, Hämoglobin wird frei und das Serum wird eisenhaltig.

Am leichtesten werden diese Bedingungen erfüllt, wenn man auf eine grosse circa 5—6 Liter haltende Flasche einen Zinkblechtrichter mit fast bis auf den Boden der Flasche reichendem Rohr aufsetzt, das Blut direct aus der Ader des mit der Schussmaske getödteten Pferdes bis zur fast vollständigen Füllung des Gefässes in die Flasche einströmen lässt darauf den Trichter langsam und allmälig unter stetem Blutzufliessen hebt, so dass die Flasche genau bis oben voll Blut ist, und dann einen conischen Zapfen langsam daraufsetzt und allmälig festdrückt, das überflüssige Blut hat dann Zeit abzufliessen.

Auf diese Weise wird jede schädliche Dampf- und Schaumbildung vermieden. Der Blutkuchen muss, wenn richtig verfahren wurde, oben am Zapfen festkleben. Wenn das Serum nach circa 3—4 Tagen abgegossen wird, so muss die Flasche noch fast ganz gefüllt sein. Eine kleine Leere entsteht durch die ungleiche Ausdehnung der Flüssigkeit bei Körpertemperatur und bei der circa 25° weniger betragenden Zimmertemperatur.

Das abgegossene Serum wurde stets, um es von etwa mitgerissenen Stückchen des Blutkuchens zu trennen, während 30 M. auf eine 1600—1800 Umdrehungen in der Minute machende Centrifuge gebracht; es bildete sich gewöhnlich ein schwach röthlicher Bodensatz. Ein nochmaliges Centrifugiren, das des Versuches halber einige Male ausgeführt wurde, erwies sich jedesmal als unnöthig.

Das nach dem Centrifugiren von dem schwachen Bodensatz mit einer Pipette vorsichtig abgehobene Serum muss hellgelb aussehen, durchsichtig und klar sein, die Farbe von wenig saturitem Harne haben (urina potus). Es soll weder mit der Heller'schen Probe, noch vor dem Spectroscop Hämoglobin ergeben und endlich wird es auch mit der so überaus empfindlichen Allmen'schen Reaction stets ein negatives Resultat ergeben. In dickeren Schichten leicht trüb oder rothbraun

erscheinendes Serum muss stets unnachsichtlich weggegossen werden.

Sind die angegebenen Vorsichtsmassregeln beim Füllen der Flasche strenge eingehalten worden und hat das Blut vor dem Abgiessen des Serums nicht länger als 3—4 Tage und bei nicht zu hoher Temperatur, nicht höher als gewöhnliche Zimmertemperatur, gestanden, so wird man aus Pferdeblut leicht absolut hämoglobinfreies Serum darstellen können.

Es muss indess hervorgehoben werden, dass die Versuche nur mit Pferdeblut gelingen. Trotz Anwendung aller angegebenen Vorsichtsmassregeln ist die Darstellung von reinem Serum weder aus Rinderblut noch aus Schweineblut geglückt. Ob dies einem Zufall zuzuschreiben ist, oder ob die Blutkörperchen dieser Blutarten wirklich ihr Hämoglobin leichter abgeben, oder ob eine andere Eisenverbindung im Blutserum vorhanden ist, oder ob endlich die Blutkörperchen der andern Thierarten wegen ihres geringeren specifischen Gewichtes sich nicht vollständig durch Centrifugiren entfernen lassen, müssen weitere Untersuchungen lehren.

Der Nachweis des Eisens wurde stets nach der weiter unten angegebenen Methode des Eindampfens, Eintrocknens und Einäscherns geführt. Es kann hier nur auf diese Analysen hingewiesen und gesagt werden, dass an der Abwesenheit des Eisens im Blutserum, also auch im Serumeiweiss, nicht kann gezweifelt werden.

Darstellung eisenfreien Fettes.

Schon Forster[1]) und Lunin[2]) geben an, dass sie aschenfreies Fett dargestellt haben. Es wurde daher versucht, nach ihrem Vorgehen reines Fett zu erhalten. Es wurde feinste Tafelbutter mit Salzsäure ausgekocht, die Salzsäure mit warmem destillirtem Wasser ausgewaschen, das Wasser entfernt und die geschmolzene Butter durch ein Heisswasserfilter filtrirt. Es stellte sich aber heraus, dass auch die reinste Butter eine

---

[1]) Forster: Zeitschrift für Biologie, Bd. IX, 1873, S. 297.

[2]) Lunin: l. c.

solche Menge Caseïn, Milch, albuminartige Substanzen und andere Beimengungen enthält, dass die Darstellung grösserer Mengen reinen und hauptsächlich eisenfreien Fettes auf diesem Wege viel zu schwierig und umständlich ist. Um ganz reine Butter, welche beim Einäschern keinen Rückstand hinterlässt, zu erhalten, muss man circa 5mal mit mässig starker Salzsäure und etwa 12—15mal mit reinem Wasser auskochen und auswaschen. Das auf diese Weise dargestellte reine Fett hat zudem den Nachtheil, leicht ranzig zu werden. Dieser letztere Umstand machte es für einen gewissen Zweck brauchbar, so dass stets eine kleine Menge davon vorräthig gehalten wurde.

Viel einfacher ist reines Fett darzustellen aus frischem ungeräuchertem, möglichst wenig Blutgefässe und Musculatur enthaltenden Schweinespeck; derselbe lässt sich leicht und in ausgezeichneter Qualität beschaffen.

Der Speck wird in kleine Würfel von 1 cm^3. Grösse zerschnitten und in einer Porzellanschale über einer Gasflamme ausgelassen; von dem geschrumpften Bindegewebe durch Filtriren durch ein aschenfreies Filter in einem Heisswassertrichter getrennt, darauf mit sehr verdünnter Salzsäure mehrmals ausgekocht, bis die Salzsäure beim Eindampfen keinen Rückstand mehr liefert, die Salzsäure mit heissem destillirtem Wasser ausgewaschen, das Wasser durch sorgfältiges Abgiessen und eventuelles Kochen entfernt und zum Schluss noch einmal durch ein aschenfreies Filter im Heisswassertrichter filtrirt. Man erhält auf diese Weise ein rein weisses, gut haltbares, absolut eisenfreies Fett.

Wiederholte Einäscherungen haben gezeigt, dass dies Fett nicht nur absolut eisenfrei, sondern auch bis auf minimale Spuren aschenfrei ist.

Darstellung eisenfreier Kohlehydrate.

Eisenfreien Zucker darzustellen ist sehr umständlich und mit enorm viel Verlusten verbunden. Gewöhnlicher Rohrzucker, feinste Raffinade, in möglichst wenig Wasser gelöst und durch ein Papierfilter heiss filtrirt, hinterlässt auf dem

Filter einen sehr deutlichen blauen Anflug von Ultramarin, ferner eine ganze Anzahl sonstiger verdächtiger Substanzen; übergiesst man das Papier mit Rhodankaliumlösung, so färbt es sich überall sofort deutlich röthlich, an einzelnen Stellen tief dunkelroth, ein Beweis, dass Eisenoxyd vorhanden ist.

Das Eisen durch Versetzen der Zuckerlösung mit etwas Ammoniak und nachherigem Durchleiten von Schwefelwasserstoff auszufällen, gelingt nicht; der Zucker wird dabei in eine nach längerer Zeit in Blättchen krystallisirende, höchst übelriechende Substanz verwandelt.

Das einzige Mittel, das Eisen fortzuschaffen, ist Versetzen der Zuckerlösung mit Salzsäure und Fällen des Zuckers mit Alkohol. Man braucht aber sehr grosse Mengen von Alkohol und das Herauskrystallisiren geht nur äusserst langsam vor sich; der Rohrzucker verwandelt sich nämlich bei dieser Manipulation in wasserfreien Traubenzucker[1]).

Nimmt man statt Rohrzucker den allerdings sehr viel unreinern, aber bedeutend leichter krystallisirbaren (weil weniger Invertzucker enthaltend), gewöhnlichen weissen Candiszucker des Handels, so geht die Sache etwas leichter und schneller. Man muss aber, um absolut eisenfreien Zucker zu bekommen, 2—3mal aus salzsäurehaltigem Alkohol umkrystallisiren und verliert so eine Menge Substanz, braucht auch eine Menge Alkohol.

Bei all' diesen Manipulationen ist dazu noch jedes Erwärmen, das ja beim Zugeben von Alkohol zu Wasser eintritt, ängstlich zu vermeiden, weil sich sonst Lävulinsäure humusartige Substanzen und ein sehr wohl riechender Aether bildet und der Zucker zerstört wird[2]).

Es ist also wohl möglich, kleine Mengen eisenfreien Zuckers, genügend um den Mäusen das Futter zu versüssen, darzustellen; nicht aber Mengen, welche den Bedarf der Thiere

---

[1]) Soxhlet: Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. XXI. 1880, S. 227.

[2]) Siehe hierüber v. Grote, Kehrer und Tollens: Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. CCVI, 1881, S. 207.

an Kohlehydraten zu decken im Stande wären. Es ist hingegen leicht, grosse Mengen eisenfreier Stärke ohne bedeutende Mühe und Kosten herzustellen.

Die im Handel vorkommenden bessern Reisstärken enthalten nur Spuren von Stickstoff und nur ganz minimale Mengen von unorganischen Bestandtheilen.

Durch Pulverisiren, mehrmaliges Auswaschen mit salzsäurehaltigem Wasser, nachheriges Entfernen der Salzsäure mit destillirtem Wasser und sehr vorsichtiges Trocknen bei nur ganz allmälig steigender Temperatur gelingt es verhältnissmässig leicht, auch grössere Mengen eisenfreier, ja völlig aschenfreier Stärke zu erhalten. Da wir die Stärke stets in trockenem Zustand pulverisirten und nur ganz verdünnte Salzsäure in der Kälte angewendet haben, so haben wir nie die von Scharling[1]) beschriebene Schleimbildung zu beobachten Gelegenheit gehabt. Die Stärke war durch die Behandlung ihrer fremden Beimischungen entledigt, sonst aber gänzlich unverändert.

Wiederholte Einäscherungen der zu den verschiedenen Zeiten dargestellten Stärkepräparate haben deren vollständige Reinheit zur Evidenz dargethan.

Um den Mäusen womöglich auch einen Repräsentanten der dritten Gruppe der Kohlehydrate zu geben, wurde versucht, eisenfreie Cellulose darzustellen.

Der Versuch gelang über Erwarten gut. Man braucht nur gewöhnliches schwedisches Filtrirpapier mit ziemlich starker Salzsäure zu wiederholten Malen (so lange die Salzsäure noch etwas aufnimmt) auszukochen, mit Wasser die Salzsäure auszuwaschen und den Niederschlag von fein zertheilten Cellulosefasern auf dem Wasserbad zu trocknen. Man erhält auf diese Weise ein vollständig eisenfreies, ja sogar ein vollständig aschenfreies Präparat. Nimmt man die Salzsäure nicht zu concentrirt und erhitzt man nicht zu stark, so tritt keine Veränderung der Cellulose ein [Béchamp[2])].

---

[1]) Scharling: Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. XIII., 1842, S. 272.

[2]) Béchamp: Annalen der Chemie u. Pharmacie, Bd. C, 1856, S. 367.

Bedenkt man, welche wichtige Aufgabe der Cellulose bei der Verdauung wahrscheinlich zufällt[1]), so wird man den Werth, welchen der Zusatz auch dieses Nahrungsmittels zur Mausekost hat, wohl zu schätzen wissen.

Es ist in neuerer Zeit auf die An- oder Abwesenheit der anorganischen Salze in der Nahrung grösseres Gewicht gelegt worden; diesbezügliche Untersuchungen sind von Lunin[2]) und von Forster[3]) herausgegeben worden. Es ist aber zur Stunde noch nicht sicher entschieden, ob ihre Anwesenheit in der Nahrung unerlässlich ist.

Immerhin aber wurden, um den Einwand, dass die den Thieren dargereichte Nahrung zu salzarm gewesen sei, nicht aufkommen zu lassen, der Mausekost die anorganischen Salze zugefügt und zwar in demselben procentischen Verhältniss zum Eiweiss, wie sie in der Milch enthalten sind.

Die genauesten Analysen über den Salzgehalt von Milch und Serum verdanken wir bis jetzt Bunge[4]). Aus diesen Analysen ergiebt sich, dass Kuhmilch auf 3,4 gr. Eiweiss enthält:

0,1766 K_2O
0,111 Na_2O
0,159 CaO
0,021 MgO
0,169 Cl
0,197 P_2O_5,

dass aber Pferdeblutserum auf 8,5 gr. Eiweiss enthält:

0,025 K_2O
0,435 Na_2O
0,012 CaO
0,004 MgO
0,371 Cl
0,026 P_2O_5.

---

[1]) Siehe hierüber Bunge: Lehrbuch der physiologisch-pathologischen Chemie, 1887, S. 76—79.

[2]) Lunin: l. c.

[3]) Forster: l. c.

[4]) Bunge: Zur quantitativen Analyse des Blutes, Zeitschrift für Biologie, 1876, Bd. XII, S. 191. — Bunge: Der K-, Na- und Cl-Gehalt der Milch, Zeitschrift für Biologie, Bd. X, 1874, S. 295.

Hätte die Milch den gleichen Eiweissgehalt wie das Blutserum, so müsste sie an anorganischen Salzen enthalten:

0,4415 K_2O
0,277 Na_2O
0,397 CaO
0,052 MgO
0,4225 Cl
0,4925 P_2O_5.

Werden von diesen Zahlen die Quantitäten der bereits im Serum vorhandenen Salze abgezogen, so erhalten wir die Zahlen für die Mengen jedes Salzes, welche wir auf 100 gr. Serum zugeben müssen. Wir finden, dass wir zufügen müssen:

0,317 K_2O
0,385 CaO
0,048 MgO
0,052 Cl
0,466 P_2O_5,

dass aber 0,158 Na_2O zu viel bereits im Serum enthalten ist.

Um den Thieren diese anorganischen Nahrungsbestandtheile möglichst in der gleichen Form zu geben, wie sie in der gewöhnlichen Kost sich vermuthlich vorfinden, werden sie auf Kalicarbonat, Kalkphosphat, dasjenige Calciumoxyd, was nicht in Verbindung mit der Phosphorsäure gegeben werden kann, auf Calciumcarbonat und auf Magnesiachlorit umgerechnet.

Es ergiebt sich:
0,612 K_2CO_3
0,017 $Ca_3P_2O_8$
0,358 $CaCO_3$
0,076 $MgCl_2$.

Die Thiere bekommen dabei auf 100 gr. Serum 0,062 gr. Magnesia zu viel; ein Fehler, der wohl kaum sehr in die Wagschale fallen dürfte, übrigens der Deckung des Chlormangels halber unvermeidlich ist.

Der leichtern Handhabung wegen wurde eine Mixtur dieser Salze gemacht. Es kommen auf 1 Liter Wasser:

12,5 gr. Kalicarbonat,
20,3 » Calciumphosphat,
7,1 » Calciumcarbonat,
2,7 » Magnesiumchlorid.

Vor dem Gebrauch wird jedesmal tüchtig umgeschüttelt und auf 100 gr. Serum 50 cm^3. der Mischung zugegeben.

Was endlich die verschiedenen der Nahrung zugefügten Eisenverbindungen betrifft, so wurde hinzugefügt:

a) Hämatogen, bereitet nach der von Bunge[1]) beschriebenen Methode;

b) Hämoglobin, nach der in Hoppe-Seyler's[2]) Handbuch beschriebenen Methode;

c) Eisenchlorid.

Für den Eisengehalt des Hämatogens wurde die von Bunge angegebene Zahl benutzt; für den des Hämoglobins die in den Analysen Jaquet's[3]) angegebene. Es wurde so viel von jedem Eisenpräparat zugegeben, dass auf 100 gr. des getrockneten Nahrungsgemisches ungefähr 0,01 gr. Eisen kam. Es ist dies eine Zahl, welche von den Analysen über den Eisengehalt des Eidotters herstammt; 0,01 gr. Eisen ist in 100 gr. Eidotter enthalten.

Die einzelnen Nahrungsbestandtheile wurden in folgender Weise gemischt:

Aus den Untersuchungen von Pettenkofer und Voit[4]) und denen Forster's[5]) ergiebt sich, dass ein omnivorer

---

[1]) Bunge: Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. IX, 1885, S. 49.

[2]) Hoppe-Seyler: Handbuch der physiologisch-pathologischen Analyse, Aufl. V, 1883, S. 290.

[3]) Jaquet: Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. XII, 1888, S. 285.

[4]) Pettenkofer und Voit: Zeitschrift f. Biologie, Bd. II, 1866, S. 459.

[5]) Forster: Zeitschrift für Biologie, Bd. IX, 1873, S. 381.

Eine ausführliche kritische Besprechung aller einschlägigen Versuche nebst einer genauen Angabe der bis 1881 hierüber erschienenen Litteratur findet sich in Hermann's Handbuch der Physiologie, Bd. VI: Physiologie des allgemeinen Stoffwechsels und der Ernährung von C. v. Voit, S. 519. Auf die neuern Arbeiten von: Hirschfeld: Pflüger's Archiv f. d. ges. Phys., Bd. XII, S. 533, Virchow's Archiv, Bd. 114, 1888, S. 301; Muneo Kumagawa: Virchow's Archiv, Bd. 116, 1889, S. 370; C. Voit, E. Voit und Konstantinidi: Zeitschrift für Biologie, Bd. XXV, 1888, S. 232, in welchen die Ansicht vertreten wird, dass der Körper mit viel geringern Eiweissmengen auskommen kann, glaubten wir, da die Sache zur Zeit noch nicht vollständig entschieden ist, nicht eintreten zu sollen. Die Thiere müssen eine quantitativ vollständig hinreichende Nahrung bekommen. Ein Zuviel ist jedenfalls unschädlicher als ein Zuwenig.

Mensch zu seiner Ernährung per Tag durchschnittlich aufnimmt:

138 gr. Eiweiss,
88 » Fett,
393 » Kohlehydrate,

was in Procenten ausgedrückt

21,4 % Eiweiss,
14,6 % Fett,
64,0 % Kohlehydrate

ausmacht. Für die Maus, als ein ebenfalls omnivores Thier, kann wohl der gleiche Procentsatz an den 3 Nahrungsmitteln angenommen werden.

Pferdeblutserum enthält 8,5 gr. Eiweiss; ausser Eiweiss kommen nach den Untersuchungen Röhrig's[1]) und Zawilski's[2]) nur 0,1—0,7 % Fett vor. Kohlehydrate, insbesonders Traubenzucker, findet sich nur zu 0,05—0,1 %[3]).

Es sind dies Mengen, die ihrer Kleinheit halber im vorliegenden Falle keine Bedeutung haben und vernachlässigt werden können.

Es muss also zu 100 gr. Pferdeblutserum, enthaltend 8,5 gr. Eiweiss, hinzugegeben werden: 5,6 gr. Fett und 25,3 gr. Kohlehydrate.

Es wurden also zu 100 gr. eisenfreien Blutserums 6 gr. eisenfreien Fettes, 20 gr. eisenfreier Stärke, 3 gr. eisenfreien Traubenzuckers und 2 gr. eisenfreier Cellulose hinzugefügt, ferner 50 cm³. der Salzmixtur. Das Gemisch in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad unter stetem Umrühren eingedampft; wo es nöthig war, wurde die berechnete Menge Eisen in einer der 3 Verbindungen zugegeben.

---

[1]) Röhrig: Berichte d. königl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch., Mathematisch-naturwissensch. Classe, Bd. XXVI, 1874, S. 1.

[2]) Zawilski: Arbeiten aus dem physiol. Inst. z. Leipzig, Jahrg. XI, 1876, S. 147.

[3]) Siehe hierüber Hermann's Handbuch der Physiologie, Bd. IV: Physiologie des Blutes und der Blutbewegung, von Dr. A. Rollet, S. 121.

Es entstand beim Gerinnen des Serumalbumins und dem Quellen der Stärke ein homogener Kuchen von der Consistenz eines weichen Käses, derselbe wurde mit Glasstäben in kleine Stückchen zerschnitten und bis zum leichten Anschmoren eingekocht; es wurde so ein den Mäusen angenehmer Geruch erzeugt. Dieses Nahrungsgemisch konnte in der Kälte längere Zeit aufbewahrt werden, ohne dass es sauer wurde. Acht Mäuse zehrten an einem solchen Gemisch, in dem 8 gr. Eiweiss enthalten waren, gewöhnlich höchstens 3 Tage, was per Tag und per Maus ungefähr 0,3 gr. Eiweiss ausmacht; wie man sieht, für ein Thier von circa 15 gr. ein bedeutender Bruchtheil seines Körpergewichtes.

Die Mäuse frassen diese Speise, sobald sie sich daran gewöhnt hatten, sehr gern. Ich habe bei vielen bemerkt, dass sie sofort nach Hineinschieben der Nahrung aus der Watte heraus kamen und unbekümmert um die Nähe der Menschen lustig frassen.

Brehm[1]) giebt in seinem Thierleben an, dass Nagethiere ohne harte Nahrung, an welcher sie ihre vorderen Zähne abarbeiten können, durch Uebereinanderwachsen der wurzellosen Schneidezähne und daraus erfolgendem Unvermögen den Mund gehörig zu öffnen und zu schliessen, zu Grunde gehen können.

Um auch diesen letzten Einwand gegen die Nahrung zu beseitigen, wurde den Mäusen alle acht Tage ein circa 1 cm^3. grosses, mit eisenfreiem, aus Butter dargestelltem ranzigem Fette angebratenes Stück Serum gegeben. Wenn nämlich Serum vollständig eingedampft wird, so trocknet es zu einer bernsteinartigen hornharten Masse ein. Ich kann bestätigen, dass die Mäuse dieses harte ranzige, ihnen wohl angenehm schmeckende Serum mit Vergnügen benagten.

Auf diese Weise glaubten wir alle Factoren bei der Zusammenstellung einer möglich zureichenden Nahrung berücksichtigt zu haben.

---

[1]) Brehm: Illustrirtes Thierleben, Bd. II, S. 60 u. 125.

Es wurden Mäuse gehalten, welche mit 5 verschiedenen Nahrungsgemischen gefüttert wurden:

a) mit absoluter eisenfreier Nahrung;
b) mit der gleichen eisenfreien Nahrung und einem Zusatz von Hämoglobin;
c) mit der gleichen eisenfreien Nahrung und einem Zusatz von Hämatogen;
d) mit der gleichen eisenfreien Nahrung und einem Zusatz von Eisenchlorid;
e) mit gewöhnlichem hart gekochtem und mit etwas eisenfreier Stärke, Cellulose und Wasser vermischtem Eidotter.

Alle Mäuse wurdem beim Beginn des Versuches gewogen, desgleichen bei ihrem Tode. Alle mit künstlicher Nahrung gefütterten hatten, theilweise sogar bedeutend, an Gewicht verloren. Jede Maus wurde secirt, um festzustellen, ob nicht etwa eine dem eigentlichen Versuche fernliegende Todesursache vorhanden sei. Bei der Section kamen allerlei, weiter unten angeführte Verhältnisse an's Licht. Hauptsächlich war auffallend das überaus häufige Auftreten des Cysticercus fasciolaris in der Leber der Thiere. L. Vogel[1]) giebt zwar an, dass das Vorkommen auch grosser Mengen des Cysticercus fasciolaris den Thieren keinen Schaden bringt, und ich glaube dies an Handen meiner Versuche bestätigen zu können. Immerhin wurden die Thiere, bei welchen solche Parasiten vorgefunden wurden, bei den Versuchen nicht mitgerechnet. Nicht mitgerechnet wurden ferner die Mäuse, welche vor dem dritten Versuchstage starben, weil es undenkbar erscheint, dass die Thiere in so kurzer Zeit an künstlicher Nahrung sterben können. Man muss vielmehr annehmen, dass die Thiere aus Angst über die veränderte Lebenslage zu Grunde gingen.

---

[1]) L. Vogel: Rundschau aus d. Gebiet. der Thiermedicin, Bd. IV, 1888, S. 41, 49, 57.

Die Mäuse frassen bis zu ihrem Tode. Bei keiner einzigen ist der Magen oder gar der Darm leer gefunden worden, ein Beweis dafür, dass die Thiere, wenn sie sich erst einmal eingewöhnt hatten, mit Lust an die ihnen dargereichte künstliche Nahrung gingen, dass dieselbe also ihrem Geschmack zusagte.

Von den mit absolut eisenfreier Nahrung gefütterten Mäusen starben:

am 4.	Versuchstage	. . . . . .	1 Maus
» 5.	»	. . . . . .	1 »
» 6.	»	. . . . . .	3 Mäuse
» 9.	»	. . . . . .	2 »
» 10.	»	. . . . . .	1 Maus
» 12.	»	. . . . . .	1 »
» 13.	»	. . . . . .	1 »
» 16.	»	. . . . . .	2 Mäuse
» 17.	»	. . . . . .	2 »
» 18.	»	. . . . . .	1 Maus
» 19.	»	. . . . . .	1 »
» 20.	»	. . . . . .	1 »
» 21.	»	. . . . . .	2 Mäuse
» 24.	»	. . . . . .	4 »
» 25.	»	. . . . . .	1 Maus
» 29.	»	. . . . . .	1 »
» 32.	»	. . . . . .	1 »

Vor dem 3. Versuchstage starben 4 Mäuse. Am Cysticercus fasciolaris litten 4 Mäuse, sie starben am 8., 22., 23. und 31. Versuchstage; bei einer Maus, die am 31. Tage starb, wurden Exemplare von Taenia pusilla[1]) gefunden, ein, wie es scheint, ebenfalls ziemlich unschädlicher Parasit. Endlich wurden bei 2 der in den Versuchen eingerechneten Mäuse, sie starben am 18. und 19. Tage, in der Harnblase kleine Steine gefunden. Die Kleinheit der Concremente machte eine Analyse unmöglich.

Mit eisenfreier Nahrung können Mäuse also höchstens 32 Tage lebend erhalten werden.

---

[1]) Die Bestimmung der gefundenen Parasiten übernahm Herr Prof. Dr. Fritz Zschokke. Für diese Freundlichkeit sei ihm an dieser Stelle der beste Dank abgestattet.

Von den mit eisenfreier Nahrung unter Zusatz von Hämoglobin gefütterten Mäusen starben:

am	4.	Versuchstage	2 Mäuse
»	5.	»	3 »
»	6.	»	3 »
»	7.	»	1 Maus
»	8.	»	2 Mäuse
»	9.	»	2 »
»	11.	»	1 Maus
»	13.	»	1 »
»	14.	»	1 »
»	16.	»	1 »
»	18.	»	1 »
»	20.	»	1 »
»	23.	»	2 Mäuse
»	25.	»	1 Maus
»	27.	»	1 »

Vor dem 3. Versuchstage starben 7 Mäuse. An Cysticercus litten 5 Thiere, sie starben am 3., 4., 7., 9. und 17. Versuchstage. An Filaria obtusa litt eine Maus, sie starb am 2. Tage der Gefangenschaft, an Taenia pusilla eine Maus, welche am 8. Tage zu Grunde ging. Eine Maus, welche am 16. Tage durch Nichtfressen auffiel, starb am 17., die Section ergab Verschluss des Magens durch einen Wattepfropf.

Mit hämoglobinhaltiger künstlicher Nahrung können also Mäuse nur bis zum 27. Tage lebend erhalten werden.

Mit eisenfreier Nahrung unter Zusatz von Hämatogen lebten Mäuse:

bis	zum	5.	Versuchstage , . . .	1 Maus
»	»	9.	»	1 »
»	»	12.	»	1 »
»	»	13.	»	2 Mäuse
»	»	16.	»	1 Maus
»	»	21.	»	1 »
»	«	27.	»	1 »

An Cysticercus fasciolaris litten 2 Mäuse, sie starben am 4. und 14. Tage.

Zwei Mäuse hatten die ganze Leber mit einer grossen Anzahl kleiner gelblicher, stecknadelkopfgrosser Knötchen durchsetzt. Cysticercen waren es nicht. Die Knötchen be-

standen aus Rundzellen, am ähnlichsten waren sie Tuberkelknötchen, nur waren absolut keine Riesenzellen darin aufzufinden, was es war, konnte leider nicht eruirt werden. Die beiden Mäuse wurden selbstverständlich nicht mit in den Versuch eingerechnet.

Mit künstlicher Nahrung unter Hämatogenzusatz können Mäuse also nur 27 Tage leben.

Mit der künstlichen Nahrung und einem Zusatz von Eisenchlorid starben:

am 4. Versuchstage . . . . . . 5 Mäuse
» 5. » . . . . . . 2 »
» 6. » . . . . . . 1 Maus
» 8. » . . . . . . 1 »
» 9. » . . . . . . 2 Mäuse
» 11. » . . . . . . 1 Maus
» 12. » . . . . . . 1 »
» 16. » . . . . . . 1 »
» 20. » . . . . . . 1 »
» 23. » . . . . . . 1 »
» 25. » . . . . . . 1 »
» 27. » . . . . . . 1 »

Vor dem 3. Versuchstage starben 2 Mäuse. An Cysticercus fasciolaris litten 4 Mäuse, sie starben am 4., 9., 10., 11. Tage. Eine Maus, welche am 4. starb, litt an Taenia diminuata; eine andere, welche im Versuch mit eingerechnet wurde (sie starb am 4. Tage), hatte auf der rechten Seite keine Niere, der rechte Urether war ganz kurz, rudimentär entwickelt und wahrscheinlich obliterirt. An Stelle der Niere fand sich keine auffallende Bindegewebs- oder Fettansammlung.

Es können also Mäuse mit künstlicher Nahrung und anorganischen Eisenverbindungen nicht länger als 27 Tage am Leben erhalten werden.

Mit blossem hartgekochtem, mit etwas eisenfreier Stärke, Cellulose und Wasser vermischtem Eidotter lebten die Mäuse viel länger. Es starben:

am 4. Tage . . . . 2 Mäuse
» 5. » . . . . 2 »
» 8. » . . . . 1 Maus
» 9. » . . . . 1 »

am 20. Tage	. . . .	1 Maus
» 21. »	. . . .	1 »
» 43. »	. . . .	1 »
» 53. »	. . . .	1 »
» 55. »	. . . .	1 »
» 60. »	. . . .	1 »
» 66. »	. . . .	1 »
» 70. »	. . . .	1 »
» 99. »	. . . .	1 »

Die vier letzten Mäuse waren, da die Versuche abgeschlossen werden mussten, mit Chloroform getödtet worden.

An Cysticercus fasciolaris litt nur eine Maus, sie starb am 5. Versuchstage. Eine Maus hatte Watte gefressen, sie starb am 4. Tage an Verschluss des Magens. Vor dem 3. Versuchstage gingen 4 Mäuse zu Grunde. Die längere Zeit lebenden Mäuse hatten alle, eine sogar 2 gr., an Gewicht zugenommen.

Am Anfang des Versuchs war den Mäusen einfach hartgekochter Eidotter gereicht worden. Sie frassen aber von der ihnen offenbar sehr zusagenden Nahrung so unmässig, dass eine ganze Anzahl daran zu Grunde ging, daher rühren die Todesfälle vom 4., 5., 8. und 9. Versuchstage. Es fand sich bei der Section der Magen bis zu Kirschgrösse aufgetrieben, gefüllt mit fein zerkautem hartgekochtem, fast trockenem Eidotter. In der Folgezeit wurde daher der Eidotter nur noch mit Wasser verdünnt und vermischt mit eisenfreier Stärke und Cellulose verfüttert.

Aus den angeführten Zahlen ist ersichtlich, dass Mäuse bei künstlicher Nahrung nach circa 30 Tagen zu Grunde gehen, während mit Eidotter, also mit natürlicher Nahrung, gefütterte Thiere beliebig lange leben können.

Es liegt nahe, die Schuld auf die ungenügende Nahrung zu werfen, und doch war in dem dargereichten Futter alles enthalten, was überhaupt als zum Leben nothwendig bekannt ist. Es muss unbedingt in der Nahrung etwas gefehlt haben, aber dieses Etwas ist uns zur Stunde noch vollständig unbekannt. Ist es eine Fettart? Ist es eine lecithinähnliche Verbindung, d. h. eine organische Phosphorverbindung? Sind

die anorganischen Salze vielleicht nur in Verbindung mit organischen Stoffen resorbirbar? oder endlich, was das Wahrscheinlichste ist, sind vielleicht nicht alle Eiweissarten gleichwerthig und sind einzelne dieser Verbindungen zum Leben absolut nothwendig und durch andere ihnen chemisch noch so nahe stehende nicht vertretbar?

Die Lösung dieser Frage musste als zu weitführend verschoben werden; aber diese in Milch und Eidotter sicherlich enthaltenen Stoffe in nicht allzu langer Zeit aufzufinden wird hoffentlich gelingen. Der sicherste Weg dazu dürfte wohl sein: Milch und Eidotter zu zerlegen und die aufgefundenen beiden gemeinsamen Bestandtheile einer künstlichen, allen bisherigen Anforderungen entsprechenden Nahrung zuzufügen und zu sehen, ob und wie lange Thiere damit zu leben im Stande sind. Versuche an jungen, noch wachsenden Thieren würden wohl am schnellsten und sichersten zum Ziele führen.

Es ist endlich noch versucht worden, durch Bestimmen des Eisens in den Leichen der bei verschiedener Nahrung gestorbenen Mäuse zu einem Resultate hinsichtlich der Resorbirbarkeit der Eisenverbindungen zu gelangen.

Hätte man nämlich in den Leichen der mit Hämatogen oder Eidotter gefütterten Mäuse mehr Eisen gefunden, als in den Leichen der mit eisenfreier Nahrung oder mit anorganischen Eisensalzen gefütterten Thiere, so wäre dies ein Wahrscheinlichkeitsgrund mehr für die Resorbirbarkeit des Hämatogens gewesen.

Die Untersuchungen gaben aber leider nicht das erhoffte Resultat. Es gelang nicht, den Eisengehalt der bei eisenfreier Kost längere Zeit gehaltenen Mäuse zu bestimmen, da die Analyse durch einen Unglücksfall unliebsam unterbrochen wurde, und die Zahlen, welche durch die Untersuchung der bei anderer Nahrung gehaltenen Mäuse gefunden wurden, differiren so wenig, dass nichts Bestimmtes aus ihnen herauszulesen ist.

Die bei Hämoglobinnahrung gehaltenen Mäuse ergaben:

auf 100 gr. Maus . . . . . 0,0115 gr. Fe,

die bei Eidotternahrung gehaltenen dagegen:

auf 100 gr. Maus . . . . . 0,0096 gr. Fe.

Es ist also aus der ganzen weitläufigen Untersuchung für die Lösung der Frage nach der Resorbirbarkeit des Hämatogens nur verwendbar die Erwägung: Es ist nicht wohl denkbar, dass Mäuse 60, 66, 70, 99 Tage mit Eidotter gelebt und ihr Körpergewicht vermehrt haben, ohne von den in der Kost enthaltenen organischen Eisenverbindungen etwas resorbirt zu haben.

Die Frage nach der Resorbirbarkeit des Hämatogens und überhaupt der Eisenverbindungen lässt sich aber nach meiner Ueberzeugung auf keinem andern Wege glatt und vollständig lösen, als auf dem eben beschriebenen der Fütterungsversuche. Nur müssen wir vor allem Anderen im Stande sein, eine Nahrung künstlich zusammenzustellen, die alle zum Leben nothwendigen Bestandtheile enthält.

Denkbar wäre es noch, die Resorptionswege der verschiedenen Eisenverbindungen unter dem Microscop zu verfolgen. Doch würde man hierbei auf die Schwierigkeit stossen, dass sich die microchemischen Untersuchungen nicht quantitativ durchführen lassen.

Genauere Beschreibung der Versuche über den Eisengehalt des Blutserums.

Vollkommen hämoglobinfreies Blutserum, das in oben beschriebener Weise erhalten worden war, wurde in Platingefässen in der früher beschriebenen Weise eingedampft und eingeäschert. Da es sich bei diesen Untersuchungen nur um den qualitativen Nachweis von Eisen handelte, so wurde von dem Natroncarbonatzusatz Umgang genommen.

Analyse I.

275 cm^3. reines hellgelbes Blutserum, bei welchem mit keiner der 3 Reactionen (spectroscopische Untersuchung, Heller'sche Probe, Allmen'sche Reaction) Hämoglobin konnte entdeckt werden, wird eingeäschert. Im Wasserauszug lässt sich kein Eisen nachweisen. In der Aschelösung lässt sich weder durch Rhodankalium Röthung, noch durch Ueber-

sättigen mit Ammon und Versetzen mit Schwefelammon Grünfärbung erzielen.

Analyse II.

195 cm³. reinen hellgelben Blutserums, bei welchem sich ebenfalls kein Hämoglobin nachweisen lässt, ergeben beim Einäschern das gleiche Resultat; auch hier lässt sich weder im Wasserauszug der Kohle, noch in der gelösten Asche irgend welche Spur von Eisen nachweisen.

Analyse III.

500 cm³. Pferdeblutserum, die ebenfalls vollkommen hämoglobinfrei sind, liefern das gleiche Ergebniss; auch hier vollständige Abwesenheit jeder Spur von Eisen.

Es sind in der Folge noch viele Analysen grösserer und kleinerer Quantitäten von Pferdeblutserum gemacht worden; war das Serum hämoglobinfrei, was durch die 3 angeführten Prüfungen entschieden wurde, so war es auch stets eisenfrei.

Kuhblutserum, das nie ganz hämoglobinfrei zu bekommen war, wurde auch nie ganz eisenfrei gefunden. Die Asche von 830 cm³. und 500 cm³. dieses Serums zeigte deutliche, wenn auch nur ganz geringe Spuren von Eisen.

Auffallend reich an Eisen war dagegen der von allem Hämoglobin befreite Faserstoff. Es wird dadurch wahrscheinlich, dass das Eisen auch im Plasma nicht enthalten ist, sondern in den Leucocythen. Denn das von den weissen Blutkörperchen befreite Plasma liefert bekanntlich ein sehr spärliches Gerinnsel. Es wird dadurch ferner wahrscheinlich, dass bei der Ernährung der Gewebe die Leucocythen das Eisenmaterial liefern.

Genauere Beschreibung der Untersuchungen über den Eisengehalt der mit verschiedener Nahrung gefütterten Mäuse.

Bei der Section wurde der Darm von oberhalb des Magens bis dicht vor dem Anus unter Zurücklassung des Mesenteriums sorgfältig entfernt; an der Scheere und Pincette

haftendes Blut wurde mit destillirtem Wasser sorgfältig abgespült; die Maus wurde gewogen und kam in ein bedecktes Becherglas, das in der Kühle aufbewahrt wurde. War eine Anzahl Mäuse bei einander, so wurden sie aus dem Becherglas in eine Platinschale gespült unter Vermeidung jeglichen Verlustes; in der Platinschale möglichst fein zerhackt und, mit Natroncarbonat im Ueberschuss versetzt, eingedampft, getrocknet und wie oben beschrieben eingeäschert.

Analyse I.

4 Mäuse, welche 21, 23, 23, 27 Tage mit hämoglobinhaltiger Nahrung gelebt hatten, im Gewicht von

47,17 gr.

werden eingeäschert. Wasserauszug und Filtrat nach Abfiltriren des Niederschlages von phosphorsaurem Eisen absolut eisenfrei.

Es findet sich

0,0148 $FePO_4$ = **0,0054** gr. Fe.

Es sind enthalten

in 47,17 gr. Maus . . . . 0,0054 gr. Fe,
also in 100 gr. Maus . . . . **0,0115** gr. Fe.

Analyse II.

7 Mäuse, welche 21, 52, 55, 60, 66, 72 und 99 Tage bei Eidotternahrung gelebt haben und wie oben angegeben behandelt worden sind, wiegen

73,24 gr.

Sie werden wie gewohnt eingeäschert. Auch diesmal ist Wasserauszug und letztes Filtrat eisenfrei.

Es findet sich

0,0192 gr. $FePO_4$ = **0,0071** gr. Fe.

In 73,24 gr. Maus . . . . . . 0,0071 gr. Fe,
in 100 gr. Maus . . . . . **0,0096** gr. Fe.

Bei allen diesen Analysen wurde selbstverständlich der Eisenfreiheit der Reagentien besondere Aufmerksamkeit zugewandt. Die Salzsäure ist es vor Allem, welche stets wieder genaue Untersuchung verlangt; durch längeres Stehen in den

Flaschen wird auch die reinste Säure wieder leicht eisenhaltig, darum muss stets von Zeit zu Zeit geprüft werden, um Schaden vorzubeugen. Es ist überhaupt, da das Eisen sozusagen überall ist, bei allen Manipulationen die grösste Reinlichkeit und Sorgfalt zu beobachten.

Resultate.

1. Die organischen Eisenverbindungen des Eidotters sind resorbirbar.
2. Filtrirter Harn enthält bei gewöhnlicher Nahrung keine quantitativ bestimmbaren Eisenmengen.
3. Serumeiweiss aus hämoglobinfreiem Serum dargestellt ist eisenfrei.
4. Eine künstliche Nahrung zu bereiten, in welcher alle zum Leben nothwendigen Stoffe vertreten sind, ist zur Stunde noch nicht möglich.
5. Durch einfaches Vergleichen der Eisenmengen in den Einnahmen und den Ausgaben lässt sich die Frage nach der Resorbirbarkeit der Eisenverbindungen nicht entscheiden.

Ueber basische Stickstoffverbindungen aus den Samen von Vicia sativa und Pisum sativum.

Von

E. Schulze.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 8. November 1890.)

Von den zur menschlichen Ernährung, sowie zur Fütterung landwirthschaftlicher Nutzthiere vorzugsweise verwendeten Pflanzensamen ist bis jetzt nur eine beschränkte Anzahl auf stickstoffhaltige organische Basen untersucht worden. Eine Erweiterung dieser Untersuchungen kann aus mehreren Gründen als wünschenswerth bezeichnet werden. Wegen der specifischen Wirkungen, welche viele organische Basen auf den thierischen Organismus auszuüben vermögen, ist es von Wichtigkeit, über das Vorkommen solcher Stoffe in den menschlichen und thierischen Nahrungsmitteln möglichst vollständige Kenntnisse zu besitzen. Aber auch für die Pflanzenphysiologie ist dieser Gegenstand von Interesse. Es muss z. B. als möglich bezeichnet werden, dass gewisse, der aliphatischen Reihe angehörende, organische Basen an den beim Reifen der Samen, sowie beim Keimungsvorgang stattfindenden Stoffumwandlungen einen nicht unwichtigen Antheil nehmen. Um aber über diese Frage in's Klare zu kommen, muss man auch über die Verbreitung jener Stoffe in den Pflanzensamen sich Aufschluss verschaffen.

Zur Inangriffnahme solcher Untersuchungen reizte insbesondere noch der Umstand, dass wir zur Zeit mannigfache Mittel zur Abscheidung organischer Basen aus Pflanzen-

extracten besitzen. Es sei hier nur darauf hingewiesen, dass z. B. die meisten Stoffe jener Art sich durch Phosphorwolframsäure niederschlagen lassen, dass ferner die in alkoholische Lösung überführbaren Basen in sehr vielen Fällen durch weingeistige Quecksilberchlorid-Solution ausgefällt und aus den so erhaltenen Niederschlägen ohne Schwierigkeiten isolirt werden können.

Im Folgenden theile ich die Resultate mit, welche bei Untersuchung der Samen der Wicke (Vicia sativa) und der Erbse (Pisum sativum) auf organische Basen erhalten wurden — in der Hoffnung, später noch Mittheilungen über die an anderen Objecten gewonnenen Ergebnisse folgen lassen zu können. Bei Ausführung eines später noch näher zu bezeichnenden Theils der Untersuchung bin ich von Herrn W. Maxwell unterstützt worden.

In Bezug auf das zur Anwendung gekommene Verfahren sei bemerkt, dass in den ersten Versuchen nicht nur weingeistige, sondern auch mit verdünnter wässriger Salzsäure dargestellte Extracte aus den Rohmaterialien auf Basen untersucht wurden. Da die mit Weingeist erhaltenen Extracte sich weit besser verarbeiten liessen, als die anderen, so ist in den späteren Versuchen nur dieses Extractionsmittel verwendet worden.

I. Basen aus Wickensamen[1]).

Die fein gepulverten Samen wurden zuerst mit 95procentigem, dann noch einmal mit 90procentigem Alkohol in der Wärme extrahirt, die vereinigten Extracte der Destillation unterworfen, der Verdampfungsrückstand mit Wasser behandelt, die trübe Flüssigkeit mit etwas Gerbsäure, dann mit Bleiessig versetzt und hierauf filtrirt. Das Filtrat befreite ich durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Blei und dunstete es sodann im Wasserbade zum Syrup ein. Den letzteren,

[1]) Eine ganz kurze Mittheilung über diesen Theil der Untersuchung ist in den Berichten der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 22, S. 1827 von mir gemacht worden.

welchen ich als Syrup A bezeichnen will, extrahirte ich nach Zusatz von etwas Salzsäure in der Wärme zuerst mit absolutem, dann mit 95procentigem Alkohol. Ein beträchtlicher Theil desselben löste sich auf; zurück blieb ein Syrup, den ich im Folgenden mit B bezeichnen werde. Die von letzterem abgegossenen Extracte liess ich 12 Stunden stehen, dann wurden sie filtrirt und hierauf mit einer alkoholischen Quecksilberchloridlösung versetzt. Es entstand sofort ein nur wenig gefärbter starker Niederschlag, welcher sich bald in eine am Boden und an den Wänden des Gefässes anhaftende syrupartige Masse umwandelte (bei späterem Uebergiessen mit Wasser wurde dieselbe weiss und pulverig). Aus der davon abgegossenen alkoholischen Flüssigkeit schied sich langsam ein weisser krystallinischer Niederschlag aus. Derselbe wurde nach Verlauf von ca. 8 Tagen abfiltrirt. Das Filtrat lieferte aber bei mehrwöchentlichem Stehen noch eine weitere Ausscheidung der gleichen Art, welche mit der ersteren vereinigt wurde.

Bei der im Folgenden beschriebenen Verarbeitung lieferte die zuerst entstandene syrupöse Ausscheidung die gleichen Producte wie der später erhaltene Niederschlag, beide wurden daher nur bei Ausführung des ersten Versuches getrennt gehalten, später aber vereinigt. Ich behandelte dieselben, nachdem sie mit Weingeist gewaschen worden waren, mit kochendem Wasser. Dabei ging der grösste Theil in Lösung; die filtrirte und sodann im Wasserbade etwas concentrirte Flüssigkeit lieferte beim Erkalten eine krystallinische Ausscheidung; die davon abgegossene Mutterlauge gab beim Verdunsten weitere Krystallisationen. Die so erhaltenen Krystalle wurden nun zunächst durch nochmaliges Umkrystallisiren aus Wasser noch mehr gereinigt, dann fein zerrieben, in Wasser aufgerührt und mittelst Schwefelwasserstoffs zerlegt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Flüssigkeit neutralisirte ich annähernd mit reiner Natronlauge und dunstete sie sodann im Wasserbade zur Trockne ein. Die trockne Masse wurde wiederholt mit 95procentigem Weingeist ausgekocht. Der Extract lieferte beim Eindunsten eine weisse Krystallmasse, welche

neben etwas Kochsalz die salzsauren Salze mehrerer organischen Basen enthielt.

Spätere Versuche zeigten, dass man zum gleichen Endresultat gelangt, wenn man die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte saure Flüssigkeit direct im Wasserbade eindampft, ohne sie zuvor zu neutralisiren. Um in diesem Falle die Salzsäure vollständig zu entfernen, kann man entweder der auf ein geringes Volumen eingedunsteten Flüssigkeit wieder Wasser zufügen und dann wieder eindunsten, oder dieselbe eine Zeit lang über Aetzkali oder Aetzkalk stehen lassen.

Die in der beschriebenen Weise erhaltene Salzmasse bestand, wie die nähere Untersuchung derselben zeigte, der Hauptsache nach aus salzsaurem Cholin und salzsaurem Betain. Bei Behandlung der trocknen Masse mit kaltem absolutem Alkohol ging das erstere Salz in Lösung, während das letztere zurück blieb. Es zeigte sich aber, dass wiederholtes Eindunsten der alkoholischen Lösung und Extrahiren des völlig ausgetrockneten Rückstandes in kaltem absolutem Alkohol erforderlich war, um das salzsaure Cholin völlig von Beimengungen zu befreien[1]). Die Lösung des in dieser Weise gereinigten Salzes wurde nun mit alkoholischer Platinchloridsolution versetzt. Es schied sich ein Platindoppelsalz als hellgelber Niederschlag aus. Dasselbe wurde abfiltrirt, mit Weingeist gewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst und sodann in heissem Wasser gelöst. Die durch Eindunsten concentrirte Lösung lieferte nach dem Erkalten schöne orangerothe Prismen, welche sodann noch einmal umkrystallisirt wurden.

---

[1]) Wurde das salzsaure Cholin nicht in gleicher Weise gereinigt, so lieferte es ein Platindoppelsalz, dessen Formen von den gewöhnlichen abwichen; es bildete meistens rechtwinklige Tafeln. Das aus diesem Doppelsalz, durch Zerlegung desselben mittelst Schwefelwasserstoffs, dargestellte Chlorhydrat löste sich nicht vollständig in kaltem absolutem Alkohol; es blieb ein Rückstand, welcher wahrscheinlich aus salzsaurem Betain bestand.

In den einzelnen dabei erhaltenen Krystallisationen wurden Platin-Bestimmungen mit folgendem Resultat ausgeführt:

1. 0,3815 gr. der zuerst über Schwefelsäure, dann bei 100—105° getrocckneten Substanz gaben 0,1215 gr. Pt.
2. 0,3100 gr. der ebenso behandelten Substanz gaben 0,0985 gr. Pt.
3. 0,4315 gr. der ebenso behandelten Substanz gaben 0,1372 gr. Pt.

Berechnet für	Gefunden:		
$(C^5H^{14}NOCl)^2PtCl^4$:	1.	2.	3.
Pt = 31,61 [1])	31,85	31,78	31,80 %

Die Uebereinstimmung der für die verschiedenen Krystallisationen erhaltenen Zahlen beweist, dass eine einheitliche Substanz vorlag.

Das durch Zerlegung des Platindoppelsalzes mittelst Schwefelwasserstoffs erhaltene Chlorhydrat, welches in zerfliesslichen Nadeln krystallisirte, gab folgende, mit denen des Cholins übereinstimmende Reactionen:

Mit Phosphorwolframsäure	weissen Niederschlag,
» Phosphormolybdänsäure	gelben Niederschlag,
» Jod-Jodkalium	braunen Niederschlag,
» Jodquecksilber Jodkalium	gelben krystallinischen Niederschlag,
» Jodwismuth-Jodkalium	rothen Niederschlag,
» Goldchlorid	gelben krystallinischen Niederschlag, löslich in heissem Wasser,
» Gerbsäure	0.

Nach dem Zusatz von Alkali entwickelte die Lösung des Chlorhydrats langsam den Geruch des Trimethylamins.

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse machen es schon fast zweifellos, dass salzsaures Cholin vorlag. Eine Bestätigung dieser Annahme wurde noch erhalten durch die von Herrn Dr. C. Schall in Zürich auf meine Bitte ausgeführte krystallographische Untersuchung des in Prismen krystallisirten Platindoppelsalzes. Der Genannte theilte mir mit, dass die von mir ihm übersendeten Krystalle die für

---

[1]) Pt = 194,6 gerechnet. Bei Annahme der für das Atomgewicht des Platins früher angegebenen Zahl berechnet sich der Platingehalt des Cholinplatinchlorids = 31,87 %.

Cholinplatinchlorid charakteristischen Formen zeigten[1]). Die bei den Winkelmessungen erhaltenen Resultate sind im Folgenden den berechneten Werthen gegenüber gestellt:

	Gefunden:	Berechnet:
(210) : (010)	60° 9′	60° 14½′
(100) : (210)	29 51	29 45½
($\bar{1}$00) : ($\bar{1}$11)	66 47	66 44,1
(111) : ($\bar{1}$11)	52 23	52 27,2
(100) : (111)	60 37	60 48,7

Diese Ergebnisse machen es zweifellos, dass die aus den Wickensamen von mir abgeschiedene Base Cholin war.

Der Nachweis des Betains geschah in folgender Weise: Der in kaltem absolutem Alkohol unlösliche Theil der salzsauren Salze (vergl. o.) wurde in Wasser gelöst, die Lösung mit Goldchlorid versetzt. Es entstand ein starker gelber Niederschlag, welcher in heissem Wasser löslich war; die Lösung lieferte beim Erkalten Krystalle, meist die Blättchenform zeigend. Dieses Golddoppelsalz wurde mittelst Schwefelwasserstoffs zerlegt. Die vom Schwefelgold abfiltrirte Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten schöne grosse luftbeständige Krystalle. Die wässrige Lösung derselben gab Reactionen, welche mit den von Brieger[2]) für Betain angegebenen übereinstimmen, nämlich:

mit Phosphorwolframsäure	weissen Niederschlag,
» Phosphormolybdänsäure	gelben Niederschlag,
» Pikrinsäure	gelbe Krystalle,
» Jod-Jodkalium	ölige Fällung,
» Jodwismuth-Jodkalium	rothe Fällung,
» Jodquecksilber-Jodkalium	weisse Fällung im Ueberschuss löslich; aus der Lösung scheiden sich gelbe Krystallnadeln aus, wenn man die Wände des Gefässes mit einem Glasstab reibt.

Brieger bezeichnet die zuletzt angegebene Reaction als besonders charakteristisch für Betain. Ich habe mich davon überzeugt, dass auch aus Rüben dargestelltes Betain dieselbe giebt.

---

1) M. vgl. diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 413.

2) Brieger, über die Ptomaine, III, S. 77 u. 78.

Die auf meine Bitte von Herrn Dr. C. Schall ausgeführte Messung der Krystalle gab Resultate, welche sehr gut mit denjenigen übereinstimmen, die P. Groth[1]) für ein von Scheibler dargestelltes Präparat von salzsaurem Betain erhalten hat, wie die folgende Zusammenstellung zeigt:

	nach P. Groth:	nach C. Schall:
(111) : (001)	43° 49′	43° 51′
(111) : (110)	41 58,5	42 1
(100) : (001)	83 13	83 13
(111) : (100)	59 22,5	59 19
(111) : (010)	57 5	57 47
(100) : (110)	51 37	51 31
(010) : (110)	38 28	38 27

Das aus dem Chlorhydrat dargestellte schön krystallisirte Golddoppelsalz gab bei der Analyse folgendes Resultat:

0,6330 gr. Substanz, bei 95° getrocknet, gaben 0,2725 gr. Au.

	Berechnet für $C^5H^{12}NO^2AuCl^4$:	Gefunden:
Au	43,10[2])	43,06 %

Diese Versuchsergebnisse beweisen, dass salzsaures Betain vorlag.

Ich habe auch noch Goldbestimmungen in dem Golddoppelsalz ausgeführt, welches aus dem noch unreinen salzsauren Betain (beim Behandeln des Gemenges der Chlorhydrate mit kaltem absolutem Alkohol zurückbleibend) dargestellt wurde, nachdem dieses Salz einmal aus Wasser umkrystallisirt worden war. Eine aus Blättchen bestehende Krystallisation gab dabei folgende Zahlen:

1. 0,5970 gr. Substanz gaben 0,2572 gr. = 43,08 % Au.
2. 0,5550 » » » 0,2405 » = 43,33 % Au.

Im Mittel wurden also 43,21 % Au gefunden, während die Formel des Betaingoldchlorids 43,10 % verlangt. Eine zweite Krystallisation, welche im Aussehen von der ersteren etwas abwich, gab eine etwas niedrigere Zahl, nämlich

[1]) Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 3, S. 157.

[2]) Wenn man nach Krüss Au = 196,64 rechnet, so verlangt obige Formel 43,06 % Au.

42,64% Au — ein Umstand, welcher im Verein mit einigen w. u. mitgetheilten Versuchsergebnissen es als möglich erscheinen lässt, dass der in kaltem Alkohol unlösliche Theil der Chlorhydrate neben Betain noch eine andere organische Base in geringer Menge enthielt.

Die im Vorigen beschriebenen Producte sind, wie aus den von mir gemachten Mittheilungen zu ersehen ist, aus der Lösung dargestellt, welche bei Extraction des Syrups A (vgl. o.) mit heissem Weingeist erhalten worden war. In diese Lösung war aber das Betain nur unvollständig eingegangen; ein beträchtlicher Theil fand sich in dem beim Auskochen mit Weingeist ungelöst gebliebenen Theile des Syrups vor, welchen ich oben mit B bezeichnet habe. Die Verarbeitung dieses Syrups geschah in folgender Weise: Derselbe wurde in wenig heissem Wasser gelöst, die Lösung der Ruhe überlassen. Es schied sich bald in beträchtlicher Menge ein in feinen Nadeln krystallisirender Körper aus, welcher leicht als das von Ritthausen[1]) in den Wickensamen entdeckte Vicin erkannt werden konnte. Derselbe erwies sich als schwer löslich in Wasser und war daher durch Umkrystallisiren leicht zu reinigen. Beim Uebergiessen mit verdünnter Salpetersäure quoll er zu einer kleisterähnlichen Masse auf. Als eine Probe des Körpers mit starker Salzsäure gekocht, die Flüssigkeit nach dem Erkalten mit sehr wenig Eisenchlorid vermischt und dann mit Ammoniak übersättigt wurde, entstand eine tiefblaue Flüssigkeit. Diese Reactionen machen es unzweifelhaft, dass Vicin vorlag.

Die vom Vicin abfiltrirte Mutterlauge wurde zur Reinigung mit etwas Bleiessig vermischt, nach der Filtration mit Schwefelsäure angesäuert und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt. Es entstand ein starker Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit kaltem Wasser gewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst und sodann durch Behandlung mit kalter Kalkmilch zerlegt wurde. Die von den unlöslichen Kalkverbindungen abfiltrirte Flüssigkeit wurde zur Entfernung des Kalks mit

[1]) Journal für prakt. Chemie, N. F., Bd. 24, S. 202.

Kohlensäure behandelt, dann filtrirt und im Wasserbade eingedunstet, nachdem ihr zuvor so viel Schwefelsäure zugesetzt worden war, dass sie nur noch schwach alkalische Reaction besass. Den Verdampfungsrückstand extrahirte ich in der Wärme mit absolutem Alkohol. Die Lösung lieferte beim Verdunsten glänzende Krystalle, welche die Eigenschaften des Betains besassen. Dieselben lösten sich sehr leicht in Wasser zu einer neutral reagirenden Lösung; an feuchter Luft zerflossen sie; das aus denselben dargestellte Chlorhydrat gab die schon oben für Betain angegebenen Reactionen. Das aus diesem Chlorhydrat dargestellte, in Blättern krystallisirende Golddoppelsalz gab bei der Analyse folgende Zahlen:

0,3918 gr. Substanz gaben 0,1690 gr. = 43,13 % Au (während die Theorie 43,10 % verlangt).

Ich habe schliesslich noch die nach dem Auskrystallisiren des Betains übrig gebliebene alkoholische Mutterlauge untersucht. Dieselbe wurde unter Zusatz von Salzsäure eingedunstet, das so erhaltene Chlorhydrat in das Golddoppelsalz verwandelt, letzteres aus heissem Wasser umkrystallisirt. Die in den verschiedenen Krystall-Fractionen ausgeführten Goldbestimmungen gaben folgende Resultate:

a) 0,4595 gr. Substanz gaben 0,1965 gr. = 42,77 % Au.
b) 0,2905 » » » 0,1203 » = 41,41 % Au.

In einer zweiten Bestimmung gaben:

0,5255 gr. der gleichen Substanz b 0,2170 gr. = 41,30 % Au.

Die Fraction a besass also einen Goldgehalt, welcher demjenigen des Betaingoldchlorids sehr nahe liegt, während derjenige der Fraction b um 1,7 bis 1,8 % niedriger war. Dies spricht dafür, dass in der untersuchten Mutterlauge neben salzsaurem Betain noch das Chlorhydrat einer anderen Base sich vorfand. Diese Base kann nicht Cholin gewesen sein: denn das Chloraurat desselben besitzt einen höheren Goldgehalt als das Chloraurat des Betains.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ergiebt sich, dass aus den Wickensamen ausser Vicin noch zwei stickstoffhaltige Körper basischer Natur, nämlich Cholin

und Betain[1]), abgeschieden werden konnten und dass daneben wahrscheinlich in sehr geringer Menge noch eine andere Base sich vorfand, über deren Beschaffenheit ich bis jetzt nähere Angaben nicht machen kann.

Ueber die Ausbeute an Cholin und an Betain ist Folgendes anzugeben: Bei Verarbeitung von 20 kgr. Wickensamen erhielt ich 8—9 gr. Cholinplatinchlorid = 3—3½ gr. Cholin und 11—12 gr. Betain. Das letztere wurde theils als salzsaures Salz, theils als freies Betain gewogen.

Schliesslich sei noch ein Resultat erwähnt, zu welchem ein von W. Maxwell und mir an den gleichen Wickensamen ausgeführter Versuch führte. Wir extrahirten eine Portion der feingemahlenen Samen mit 2½procentiger wässriger Salzsäure, dunsteten den filtrirten Extract im Wasserbade ein und behandelten den Verdampfungsrückstand in der Wärme mit Weingeist. Als wir den so erhaltenen Extract in der früher beschriebenen Weise auf Cholin verarbeiteten, erhielten wir ein Platindoppelsalz, welches den Platingehalt des Cholinplatinchlorids besass (gefunden 31,86, berechnet 31,61 % Pt), aber in Oktaedern krystallisirte — und zwar waren es nach der von Herrn Dr. Schall ausgeführten krystallographischen Untersuchung reguläre Oktaeder. Das bei Zerlegung dieses Platindoppelsalzes erhaltene Chlorhydrat gab Reactionen, welche von denen des Cholins nur in einigen unwesentlichen Punkten abwichen[2]). Das daraus dargestellte Golddoppelsalz stimmte im Gold- wie im Chlor-Gehalt mit dem Chloraurat des Cholins überein (gefunden 44,58 % Au und 32,10 % Cl, berechnet 44,47 % Au und 32,08 % Cl). Der Annahme, dass hier ein Isomeres des Cholins vorgelegen habe, steht die That-

---

[1]) Dass ich nach dem Vorgange Anderer das Betain als Base bezeiche, wird wohl nicht auf Widerspruch stossen. Wenn auch die genannte Substanz in wässriger Lösung nicht alkalisch reagirt, so charakterisirt sie sich doch durch die Art ihrer Verbindungen als Base.

[2]) Die durch Jodquecksilber-Jodkalium und Jodwismuth-Jodkalium hervorgebrachten Niederschläge stimmten im Aussehen nicht völlig mit denjenigen überein, welche reine Lösungen von salzsaurem Cholin mit den gleichen Reagentien gaben.

sache entgegen, dass ich bei der später ausgeführten Verarbeitung einer grösseren Quantität des gleichen Materials ein Cholin erhielt, dessen Platindoppelsalz die gewöhnlichen Formen zeigte, wie w. oben schon dargelegt worden ist; die oben mitgetheilte Beobachtung führt demnach zu der Schlussfolgerung, dass unter gewissen Umständen das Cholinplatinchlorid in regulären Oktaedern zu krystallisiren vermag.

Auch Hundeshagen[1]) und Jahns[2]) erhielten oktaedrische Krystalle von Cholinplatinchlorid, und zwar durch Umkrystallisiren dieses Salzes aus verdünntem Weingeist; Hundeshagen bezeichnet dieselben als regulär-oktaedrisch. Nach Jahns enthalten sie 1 Molekül = 2,84% Krystallwasser.

Von beiden eben genannten Autoren wird angegeben, dass das Cholinplatinchlorid bei langsamer Ausscheidung aus der wässrigen Lösung in Tafeln, bei rascher Ausscheidung dagegen in Prismen krystallisirt[3]). Diese Angabe stimmt mit meinen Beobachtungen vollkommen überein. Die Prismen sind in der Regel gut ausgebildet und von beträchtlicher Grösse. Bei raschem Erkalten sehr concentrirter Lösungen erhält man zuweilen sehr dünne Prismen (Nadeln).

II. Basen aus Erbsensamen.

Ungefähr 3½ Kilogr. entschälte und fein gepulverte Erbsensamen wurden unter Zusatz von etwas Calciumcarbonat in der Wärme mit 90procentigem Weingeist zweimal extrahirt. Den Extract verarbeitete ich ebenso, wie den weingeistigen Extract aus Wickensamen (m. vgl. w. o.). Der bei dieser Verarbeitung resultirende Syrup, welchen ich auch hier wieder als Syrup A bezeichnen will, wurde in der Wärme mehrmals mit 95procentigem Weingeist ausgekocht. Den so gewonnenen Extract versetzte ich mit alkoholischer Quecksilberchlorid-Lösung. Es schieden sich Quecksilberdoppelsalze aus, welche

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. 28, S. 246.

[2]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 23, S. 2973.

[3]) Im Gegensatz zu Hundeshagen giebt Jahns an, dass Tafeln und Prismen dem gleichen Krystallsystem angehören.

erst nach Verlauf von circa 2 Monaten abfiltrirt, sodann aus Wasser umkrystallisirt, hierauf mittelst Schwefelwasserstoffs zerlegt wurden. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Lösung dunstete ich im Wasserbade ein, trocknete den Salzrückstand zuerst über Aetzkali, sodann über concentrirter Schwefelsäure vollständig aus und behandelte ihn hierauf mit kaltem absolutem Alkohol. Der grösste Theil der Salze löste sich auf. Die Lösung wurde eingedunstet, der über Schwefelsäure völlig ausgetrocknete Verdampfungsrückstand wieder in kaltem absolutem Alkohol aufgenommen. Die filtrirte Lösung versetzte ich mit alkoholischer Patinchlorid-Solution. Es entstand ein hellgelber Niederschlag, welcher nach dem Abfiltriren und Auswaschen in Wasser gelöst wurde. Die Lösung lieferte schöne orangerothe Krystalle, welche im Aussehen mit dem bei Verarbeitung des Wickensamen-Extracts erhaltenen Cholinplatinchlorid vollständig übereinstimmten. Sie besassen auch den gleichen Platingehalt, wie die folgenden Zahlen beweisen:

0,4626 gr. des bei 100—105° getrockneten Salzes gaben 0,1466 gr. Pt.

	Berechnet für $(C^5H^{14}NOCl)^2PtCl^4$:	Gefunden:
Pt	31.61	31,69 %

Das aus dem Platindoppelsalz dargestellte Chlorhydrat der Base krystallisirte in zerfliesslichen Nadeln und gab die gleichen Reactionen, wie das aus den Wickensamen erhaltene salzsaure Cholin (m. vgl. w. o.). Die wässrige Lösung desselben entwickelte nach dem Zusatz von Alkali langsam den Geruch des Trimethylamins.

Schliesslich wurde noch das Golddoppelsalz der Base dargestellt. Dasselbe stimmte sowohl im Aussehen wie im Goldgehalt mit dem Chloraurat des Cholins überein. Letzteres wird durch folgende Zahlen bewiesen:

0,4945 gr. des bei 95° getrockneten Salzes gaben 0,2206 gr. Au.

	Berechnet für $C^5H^{14}NOAuCl^4$:	Gefunden:
Au	44,47 [1])	44,61 %

---

[1]) 44,43 %, wenn man nach Krüss Au = 196,64 rechnet.

Diese Versuchsergebnisse berechtigen zu der Schlussfolgerung, dass die aus den Erbsen dargestellte Base identisch mit der aus den Wicken abgeschiedenen gleichartigen Substanz und dass sie demnach Cholin war.

Bei Verarbeitung von ca. 3½ Kilogr. Erbsensamen erhielt ich ungefähr 3 gr. Cholinplatinchlorid, also pro Kilogr. Samen fast 1 gr. Diese Ausbeute ist fast doppelt so gross, als diejenige, welche bei Verarbeitung von Wickensamen erhalten wurde[1]).

Die bei Zerlegung der Quecksilberdoppelsalze erhaltenen Chlorhydrate lösten sich, wie oben schon erwähnt worden ist, in kaltem absolutem Alkohol nicht vollständig auf; es blieb ein Rückstand, dessen Gewicht jedoch nur einige Decigramme betrug. Derselbe löste sich leicht in Wasser; die Lösung lieferte beim Verdunsten hübsche Krystalle, welche durch Abpressen zwischen Fliesspapier von der Mutterlauge befreit wurden. Das so gewonnene Chlorhydrat gab die Reactionen des salzsauren Betains und ich glaubte daher anfangs dieses Salz vor mir zu haben. Doch waren die Eigenschaften des aus dem Chlorhydrat dargestellten Golddoppelsalzes verschieden von denjenigen des Betaingoldchlorids. Jenes Salz krystallisirte nicht in Blättern, sondern in sehr dünnen feinen Prismen; es schmolz um ca. 30° tiefer als das Betaingoldchlorid und schien sich im Gegensatz zu letzterem Salz beim Schmelzen nicht zu zersetzen; endlich lieferte es beim Glühen nur ca 41 % Gold, während der Goldgehalt des Betaingoldchlorids 43,10 % beträgt.

Es scheint also hier das Chlorhydrat einer vom Betain verschiedenen Base vorzuliegen. Die Quantität, in welcher ich dasselbe erhielt, reichte aber zur genaueren Untersuchung nicht hin. Erst nach Beschaffung einer grösseren Materialmenge wird sich also über die Beschaffenheit jener Base Aufschluss gewinnen lassen.

---

[1]) Bei Vergleichung der Ausbeuten ist allerdings zu berücksichtigen, dass die Erbsen geschält waren, während die Wickensamen mit den Schalen verarbeitet wurden.

Es sei schliesslich noch erwähnt, dass ich auch den Rückstand untersuchte, welchen der Syrup A (m. vgl. w. o.) beim Auskochen mit Weingeist hinterliess, und dass ich aus demselben durch Ausfällen mit Phosphorwolframsäure eine Base erhielt, welche wahrscheinlich identisch mit derjenigen ist, deren Golddoppelsalz ich im Vorigen beschrieben habe. Die Quantität, in welcher diese Base sich vorfand, war aber nur eine sehr geringe.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass aus den Wickensamen Cholin und Betain, aus den Erbsen Cholin und eine dem Betain ähnliche Base, über deren Beschaffenheit ich jedoch zur Zeit nur vorläufige Angaben machen kann, zur Abscheidung gebracht werden konnten. Betain ist meines Wissens bis jetzt nur in einer Pflanzensamen-Art, nämlich in den Baumwollsamen, nachgewiesen worden, und zwar durch Ritthausen und Weger[1]). Cholin wurde durch Böhm[2]) in den Baumwollsamen und in den Bucheckern, durch Jahns[3]) im Bockshornsamen (Samen von Trigonella faenum graecum), in den Areca- und Erdnüssen, in Hanfsamen und Linsen gefunden[4]).

Ich kann meine Mittheilungen aber nicht schliessen, ohne die Frage zu discutiren, ob die aus den Wicken- und Erbsensamen von mir abgeschiedenen Basen in den Samen prä-

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. 20, S. 32. Als Untersuchungsobject verwendeten Ritthausen und Weger die im Handel vorkommenden Baumwollsamen-Kuchen. Ausserdem ist Betain bekanntlich in den Zuckerrüben (in welchen es durch Scheibler entdeckt wurde), in den Futterrüben und in Lycium barbarum gefunden worden.

[2]) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 19, S. 60 u. 87. Böhm stellte das Cholin aus Baumwollsamen- und Bucheckern-Kuchen dar.

[3]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 18, S. 2520, und Bd. 23, S. 2972.

[4]) Die mir bekannt gewordenen Angaben über das Vorkommen von Cholin in anderen pflanzlichen Substanzen habe ich in dieser Zeitschrift, Bd. 12, S. 414 zusammengestellt.

formirt, d. h. frei oder in Form von Salzen enthalten waren, oder ob sie erst während der Operationen, welche behufs Abscheidung derselben aus dem Untersuchungsmaterial in Anwendung gebracht wurden, durch Spaltung aus anderen Samenbestandtheilen sich gebildet hatten.

Was zunächst das Cholin betrifft, so entsteht dasselbe bekanntlich bei der Spaltung eines im Pflanzenorganismus verbreiteten und speciell auch in den Pflanzensamen vorkommenden Stoffes, nämlich des Lecithins. Es ist daher die Frage zu stellen, ob das aus den Wicken und Erbsen von mir gewonnene Cholin während der Verarbeitung der Samen aus Lecithin entstanden sein kann.

Diese Frage glaube ich verneinen zu müssen. Die Gründe, welche mich dazu bestimmen, sind die folgenden:

Eine Abspaltung von Cholin aus Lecithin könnte lediglich während der Darstellung der weingeistigen Samen-Extracte und während des Eindampfens der letzteren stattgefunden haben; denn die durch Behandlung des Verdampfungsrückstandes mit Wasser erhaltenen und durch Versetzen mit Bleiessig gereinigten klaren Flüssigkeiten, aus welchen die oben genannten Basen gewonnen wurden, konnten kein Lecithin enthalten. Dass aber jene Operationen eine Zersetzung des Lecithins zur Folge hatten, ist unwahrscheinlich. Allerdings besassen die weingeistigen Samen-Extracte saure Reaction; aber die letztere rührte ohne Zweifel nur von einem Gehalt an organischen Säuren (oder an sauren Salzen derselben) her und die Quantität dieser Säuren war nur gering[1]). Nun weiss man aber durch neuere Untersuchungen,

---

[1]) Ich extrahirte je 50 gr. fein gepulverte Wicken- und Erbsensamen bei Wasserbadhitze mit 90procentigem Weingeist, dunstete die filtrirten Extracte ein, nahm den Verdampfungsrückstand in Wasser auf und titrirte die trübe Flüssigkeit so genau wie möglich mit verdünntem Barytwasser. Für den Extract aus Erbsen brauchte ich 2,1 cbcm., für denjenigen aus Wicken 4,5 cbcm. Barytwasser. 1 cbcm. des letzteren war = 0,00606 gr. H^2SO^4. Der in 100 gr. des Untersuchungsmaterials enthaltenen freien Säure würden demnach folgende H^2SO^4-Mengen äquivalent sein: 100 gr. Erbsen: 0,0255 gr. H^2SO^4.
100 » Wicken: 0,0545 » »

dass das Lecithin zwar durch Alkalien sehr leicht zersetzt wird, aber eine ziemlich grosse Widerstandsfähigkeit gegen Säuren besitzt. Gilson[1]) hat gezeigt, dass der genannte Stoff beim Durchschütteln seiner ätherischen Lösung mit verdünnter Schwefelsäure sich nur langsam zerlegt; Brieger[2]) giebt an, dass man mit concentrirter Salzsäure erhitzen müsse, um aus lecithinreichen Organen, z. B. aus Gehirn, Cholin abzuspalten.

Machen schon diese Umstände es sehr unwahrscheinlich, dass während der oben beschriebenen Operationen eine Spaltung des Lecithins erfolgt war, so lässt sich ferner auch direct zeigen, dass weingeistige Extracte aus Leguminosensamen auch nach dem Eindampfen unzersetztes Lecithin enthalten. Der Beweis dafür ist schon durch einige Versuche geliefert, welche von E. Steiger und mir[3]) ausgeführt wurden; eine Fortführung dieser Versuche durch A. Likiernik und mich zeigte, dass aus solchen Extracten Lecithin in fast völlig reinem Zustande gewonnen werden kann. Wir verfuhren dabei in der Weise, dass wir die fein gepulverten Leguminosensamen zunächst mittelst Aethers entfetteten. Den Rückstand, welcher noch viel Lecithin enthielt, behandelten wir mit Weingeist bei 60—70°. Der so gewonnene Extract wurde bei circa 50° eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Aether behandelt. Aus der in dieser Weise erhaltenen Lösung liess sich Lecithin abscheiden[4]).

Will man in dieser Weise Lecithin darstellen, so ist es nicht erforderlich, die in den Samen enthaltenen organischen Säuren durch Zusatz eines Alkalis abzustumpfen. Auch erwiesen sich für diese Darstellung die Samen der gelben Lupine ebenso geeignet, als die Wickensamen, obwohl die Acidität der ersteren bedeutend grösser ist, als diejenige der

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 585.

[2]) Brieger, über die Ptomaine, II, S. 55.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 370.

[4]) In Betreff des Näheren verweisen wir auf eine demnächst erfolgende Publication.

letzteren[1]). Die in die weingeistigen Extracte übergegangenen organischen Säuren wirkten also allem Anschein nach nicht auf das Lecithin ein.

Allerdings sind in den zuletzt beschriebenen Versuchen die Samen nur bei einer Temperatur von 60—70° mit Weingeist extrahirt und es sind ferner auch die Extracte bei ca. 50° eingedampft worden, während behufs der Darstellung von Cholin die Samen mit kochendem Weingeist behandelt wurden. Wenn auch von vornherein kaum anzunehmen war, dass diese Temperaturunterschiede ein wesentlich anderes Resultat bedingen konnten[2]), so erschien es mir doch wünschenswerth, dies noch experimentell zu prüfen. Ich verarbeitete daher noch einige Kilogramm Erbsensamen in folgender Weise: Die fein gepulverten Samen wurden unter Zusatz von etwas kohlensaurem Calcium[3]) bei 60—70° mit 90procentigem Weingeist extrahirt, der filtrirte Extract sodann bei einer Temperatur von ca. 50° eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand behandelte ich mit kaltem Wasser. Die trübe Lösung wurde mit etwas Bleiessig versetzt, das Filtrat vom Bleiniederschlage vermittelst Schwefelwasserstoffs vom Blei befreit und sodann in Wasser eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit heissem 95procentigem Weingeist behandelt. Die weingeistige Lösung versetzte ich behufs Ausfällung des Cholins mit alkoholischer Quecksilberchlorid-Solution.

Auch nach diesem abgeänderten Verfahren — unter Versuchsbedingungen, welche eine Zersetzung des Lecithins verhindern mussten — erhielt ich Cholin. Dasselbe wurde durch seine Reactionen, durch Darstellung der Platin- und Gold-Doppelsalze und durch Goldbestimmungen in

---

[1]) Die Lupinensamen enthalten ziemlich viel Citronensäure.

[2]) Denn wenn auch das Lecithin beim Sieden seiner weingeistigen Lösung sich langsam verändert, so ist doch nicht bekannt, dass diese Veränderung mit einer Abspaltung von Cholin verbunden ist.

[3]) Dieser Zusatz hatte den Zweck, die geringe Menge der in den Samen vorhandenen Säuren noch abzustumpfen.

letzterem identificirt. Diese Bestimmungen lieferten folgende Resultate:

1. 0,300 gr. Substanz gaben 0,1337 gr. Au.
2. 0,200 » » » 0,0892 » »

	Berechnet für $C^5H^{14}NOAuCl^4$:	Gefunden: 1	2.
Au	44,47 %	44,57	44,60 %.

Die Ausbeute war in diesem Versuch allerdings etwas geringer, als früher; diesem Umstande kann aber kein Gewicht beigelegt werden. Denn abgesehen davon, dass bei Darstellung solcher Pflanzenbestandtheile verschiedene Versuche in der Regel nicht genau die gleiche Ausbeute ergeben werden, kann es auch nicht auffallen, dass kochender Weingeist aus dem Samen etwas mehr Cholin auszog, als Weingeist, welcher nur eine Temperatur von 60—70° besass.

Die im Vorigen mitgetheilten Thatsachen sprechen dafür, dass die Operationen, welchen die Erbsen- und Wickensamen und die aus denselben dargestellten Extracte behufs der Darstellung von Cholin unterworfen wurden, eine Zersetzung des Lecithins nicht zur Folge hatten und dass das von mir zur Abscheidung gebrachte Cholin nicht aus letzterem entstanden war[1]). Da nun ausser dem Lecithin ein Pflanzenbestandtheil, welcher bei der Spaltung Cholin liefert, bis jetzt nicht bekannt ist und da auch im Falle der Existenz eines solchen Bestandtheils es doch für fraglich erklärt werden müsste, ob derselbe bei den oben beschriebenen Operationen sich zersetzt, so gelangt man zu der Schlussfolgerung, dass in den Erbsen- und Wickensamen das Cholin präformirt ist.

---

[1]) Es sei noch erwähnt, dass in den von Steiger und mir (loc. cit.) ausgeführten Versuchen der syrupöse Rest, welcher übrig blieb, wenn die weingeistigen lecithinhaltigen Extracte aus Pflanzensamen bei gelinder Wärme eingedünstet und die Verdampfungsrückssände mit Aether behandelt wurden, nur Spuren einer Phosphorverbindung enthielt. Dies spricht dafür, dass eine Zersetzung des Lecithins entweder gar nicht oder doch höchstens in einem nicht in Betracht kommenden Grade stattgefunden hatte.

Das Gleiche gilt wohl auch für andere Samen, aus denen Cholin abgeschieden worden ist. Für die Präformirung des Cholins in den Baumwollsamenkuchen spricht insbesondere noch die Thatsache, dass die letzteren bei der Verfütterung an landwirthschaftliche Nutzthiere eine schädliche Wirkung hervorbrachten. Diese Thatsache veranlasste Böhm zur Ausführung seiner Untersuchung, welche die Auffindung einer beträchtlichen Cholinmenge in den genannten Kuchen zur Folge hatte. Dass die nachtheilige Wirkung der letzteren auf ihren Gehalt an dem bekanntlich ziemlich giftigen Cholin zurückzuführen ist, dürfte kaum zu bezweifeln sein. Eine solche Wirkung hätte aber nicht hervortreten können, wenn das Cholin nicht in den Kuchen präformirt gewesen wäre.

Was nun zweitens das Betain betrifft, so haben bald nach der Entdeckung desselben sowohl Scheibler[1]) wie Liebreich[2]) die Vermuthung ausgesprochen, dass es sowohl in den Rüben wie in der Rübenmelasse nicht frei oder in Form von Salzen, sondern in festerer Verbindung (ähnlich wie das Cholin im Lecithin) sich vorfinde. Liebreich stützte sich dabei auf die Resultate einiger mit Melasse von ihm ausgeführter Versuche. Als er die mit Salzsäure angesäuerte Melasse mit Goldchlorid versetzte, erhielt er einen reichlichen Niederschlag, welcher sich in gut ausgebildete Krystalle überführen liess. Bei Zerlegung derselben mittelst Schwefelwasserstoffs wurde eine beim Eindunsten sich zersetzende Lösung gewonnen, welche direct sehr wenig salzsaures Betain lieferte; eine grössere Menge dieses Salzes liess sich erst gewinnen, als jene Lösung mit Salzsäure eingedampft worden war. Ferner erhielt Liebreich nur eine sehr geringe Menge von Betain, als er die zuvor alkalisch gemachte Melasse mit Weingeist extrahirte.

Die von Liebreich ausgesprochenen Ansichten veranlassen auch Ritthausen und Weger (loc. cit.), daran zu

---

[1]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 3, S. 159.

[2]) Ebendaselbst, S. 161.

zweifeln, dass in den Baumwollensamen das Betain fertig gebildet sich vorfindet.

Es war zu prüfen, wie es sich in dieser Hinsicht mit dem Betain der Wickensamen verhält. Da bei der von mir ausgeführten Darstellung desselben die Einwirkung von Säuren auf die Extractbestandtheile keineswegs vermieden worden ist, so habe ich noch einen Versuch in folgender Weise ausgeführt: Einige Kilogramm fein gepulverter Wickensamen wurden unter Zusatz von etwas kohlensaurem Calcium mit 90procentigem Weingeist ausgekocht. Der filtrirte Extract wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit kaltem Wasser behandelt, die so erhaltene trübe Lösung mit Bleiessig versetzt, das Filtrat vom Bleiniederschlag durch Einleiten von Schwefelwsssserstoff vom gelösten Blei befreit. Die vom Schwefelblei abfiltrirte Lösung wurde nun mit so viel Natronlauge versetzt, dass sie nur noch schwach saure Reaction besass, und sodann zum Syrup eingedunstet. Den letzteren extrahirte ich in der Wärme mit 95procentigem Weingeist, ohne zuvor Salzsäure zuzusetzen. Die auf diesem Wege erhaltene weingeistige Lösung lieferte auf Zusatz von alkoholischer Quecksilberchloridsolution eine Ausscheidung, welche fast ausschliesslich aus dem Quecksilberdoppelsalz des Cholins bestand; Betain vermochte ich daraus nicht in einer zum sicheren Nachweis genügenden Quantität zu erhalten. Dagegen liess sich aus dem beim Behandeln mit Weingeist ungelöst gebliebenen Theil des Syrups (früher als Syrup B bezeichnet) durch Ausfällen mittelst Phosphorwolframsäure Betain gewinnen. Dasselbe wurde nach der Abscheidung aus dem Phosphorwolframsäure-Niederschlag krystallisirt erhalten; ferner stellte ich das Chlorhydrat und das Golddoppelsalz dar. Zur Identificirung dienten die Reactionen, sowie eine Goldbestimmung im Golddoppelsalz (gefunden 43,38 %, berechnet 43,10 % Au). Die Ausbeute war aber in diesem Falle ohne Zweifel eine weit geringere als früher. Es scheint demnach, dass saure Beschaffenheit der Extracte günstig auf die Gewinnung des Betains wirkte und dass somit die Verhältnisse hier ähnlich liegen wie bei der Rübenmelasse.

Um aber die hier besprochene Frage mit Sicherheit dahin entscheiden zu können, dass während der Verarbeitung der genannten pflanzlichen Objecte Betain sich bildet, müsste doch zuvor ein Pflanzenbestandtheil isolirt werden, welcher bei der Spaltung Betain liefert. Bis jetzt ist dies meines Wissens nicht geschehen.

Es ist schliesslich noch die Frage zu stellen, ob das Vorkommen von Cholin in den Wicken- und Erbsensamen als hinderlich für die Verwendung der letzteren zur thierischen Ernährung zu betrachten ist. Diese Frage kann verneint werden. Die in den genannten Samen von mir gefundenen Cholin-Quantitäten sind so gering, dass im Falle der Verfütterung dieser Samen eine schädliche Wirkung derselben kaum befürchtet werden kann.

Ueber die Ausscheidung der Kalksalze im Urin, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Beziehungen zu Ruhe und Bewegung.

Von

G. Hoppe-Seyler.

(Aus der medicinischen Klinik des Herrn Professor Quincke in Kiel.)

(Der Redaction zugegangen am 21. November 1890.)

Bei der starken Betheiligung der Kalksalze an den Vorgängen, die sich im Organismus unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen abspielen, ist es wohl von Interesse, die Resorption und die Ausscheidung derselben zu verfolgen, namentlich bei Zuständen, wo der Körper Noth leidet an den Organen, welche diesen Verbindungen hauptsächlich ihre Functionsfähigkeit verdanken, den Knochen. Die Ausscheidung des Kalks erfolgt nun in ziemlich complicirter Weise. Der in den Organismus aufgenommene Kalk wird theils in dem Urin, theils in den Secreten des Darmkanals wieder ausgeschieden. So hat Bijl[1]) nachgewiesen, dass in den Magen gebrachter Kalk daselbst theilweise resorbirt, im Darm aber zum Theil wieder ausgeschieden wird, da er mehr Kalk im unteren Dünndarm und Dickdarm fand als in Magen und Dünndarm. Ein grosser Theil des mit der Nahrung eingeführten Kalks wird aber nicht resorbirt, sondern passirt den Darmkanal, so dass der Gehalt der Fäces an Kalk kein Maass für die Ausscheidung desselben bietet. Der im Urin enthaltene Kalk ist aber sicher aus dem Magen-Darmkanal resorbirt und wieder ausgeschieden. Daher wird man für die Beurtheilung der Kalkausscheidung auf die Untersuchung des Urins angewiesen bleiben.

Ueber die Ausscheidung im Urin sind nun schon in früheren Jahrzehnten zahlreiche Untersuchungen gemacht

[1]) Inaug.-Diss. (Heidelberg), Amsterdam 1884.

worden, so hat namentlich Beneke[1]) den Gehalt des Urins an phosphorsaurem Kalk und Magnesia auch unter pathologischen Verhältnissen zu bestimmen versucht. Doch waren seine Methoden ziemlich ungenau, es fehlten genauere Daten über den Gehalt des normalen Urins an Kalkverbindungen, bis Neubauer[2]) mit seiner exacten und leicht ausführbaren Methode durch zahlreiche Analysen die normale Ausscheidungsgrösse feststellte. Er fand als Mittel 0,33 phosphorsauren Kalk als $(PO_4)_2Ca_3$ berechnet, als Maximum 0,52, als Minimum 0,25 pro die. Die Schwankungen zwischen den einzelnen Beobachtungstagen waren nicht bedeutend. Nach Eingabe von Chlorcalcium, kohlensaurem, phosphorsaurem, essigsaurem Kalk trat nur geringe Vermehrung ein, doch wurden auch nur geringe Mengen der Kalksalze entsprechend 1 gr. phosphorsaurem Kalk gegeben.

Riesell[3]) fand dagegen Vermehrung im Urin nach Eingabe grösserer Mengen von kohlensaurem Kalk, wenn auch der grösste Theil desselben in den Fäces den Organismus wieder verliess. Auch Soborow[4]), Perl[5]), Seemann[6]), Schetelig[7]) u. a. konnten dies bestätigen; namentlich wurde die Resorption der Kalksalze durch reichliches Trinken befördert, auch nimmt nach Untersuchungen von Lehmann[8]) die Diurese zu bei Eingabe von Kalksalzen.

Dass in Krankheiten eine Veränderung der Ausscheidung der Kalksalze eintritt, konnte schon Neubauer[9]) nachweisen, er fand bei einem Kinde mit Diabetes mellitus eine Vermehrung der täglichen Ausscheidung auf 0,71 phosphorsauren Kalk.

---

[1]) Zur Physiologie und Pathologie des phosphorsauren und oxalsauren Kalks, Göttingen 1850.

[2]) Journ. f. pract. Chemie, Bd. 67, S. 65.

[3]) Hoppe-Seyler, Medicinisch-chemische Untersuchungen, 3. Heft, S. 319, und Centralbl. f. d. med. Wissenschaften, 1869, S. 302.

[4]) Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1872, S. 609.

[5]) Virchow's Archiv, Bd. 74, S. 54—66.

[6]) Zeitschrift f. klin. Medicin, Bd. 5, S. 152.

[7]) Virchow's Archiv, Bd. 82, S. 437—454.

[8]) Berliner klinische Wochenschr., 1882, S. 320.

[9]) A. a. O.

Bei rachitischen Kindern sind Untersuchungen von Hirschberg[1]) und von Baginsky[2]) gemacht, welche theils eine Verminderung, theils eine gleiche Ausscheidung von Kalksalzen wie normal ergaben, aber auch eine geringere Resorption als normal constatiren liessen. Andere wie Marchand[3]) sahen dagegen Vermehrung der Kalksalze im Urin bei dieser Krankheit eintreten. Es scheint nach den zahlreichen Untersuchungen an Kranken sowohl wie auch nach Thierversuchen bei Rachitis eine mangelhafte Aufnahme von Kalksalzen vorzuliegen, welche auf einer Störung der Resorption im Verdauungstractus beruhen kann.

Abnorm grosse Mengen von Kalk fand Senator[4]) bei Phthise, was Schetelig[5]), wohl mit Unrecht, bestritt. Auch bei Pseudarthrose mit sehr weichen Knochen, Tumor albus, Abscessen, die von cariösen Knochen ausgingen, wies Soborow[6]) Vermehrung des Kalks im Urin nach.

Bei Knochenkrebs fand Virchow[7]) Kalkconcremente im Nierenbecken, wohl hervorgerufen durch starke Ausscheidung von Kalksalzen.

Dagegen wurde bei mangelnder Nahrungszufuhr, wie dies z. B. bei Fieber eintritt, Verminderung beobachtet, namentlich wenn die Resorption, wie bei Typhus, darnieder liegt [Schetelig[5])].

Eine eigenthümliche Veränderung erfährt der Organismus in Bezug auf seinen Gehalt an Kalksalzen unter der Wirkung von Quecksilberpräparaten, besonders des Sublimats. Nach den Untersuchungen von Saikowsky[8]) und von Prevost und Frutiger[9]) werden bei subcutaner Injection von Sublimat, Calomel, Quecksilberjodid unter die

---

[1]) Diss., Breslau, referirt: Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1878, S. 90.

[2]) Virchow's Archiv, Bd. 87, S. 301—318.

[3]) Journal f. pract. Chemie, Bd. 27, S. 93.

[4]) Charité-Annalen, Bd. 7, S. 397, refer. im Jahresber. f. Thierchemie, Bd. 12, S. 475.

[5]) A. a. O.

[6]) A. a. O.

[7]) Virchow's Archiv, Bd. VIII, S. 103.

[8]) Virchow's Archiv, Bd. 37, S. 346.

[9]) Compt. rend. de l'académie des sciences, Bd. 96, S. 263.

Haut in Dosen, welche nach einigen Tagen den Tod herbeiführen, Kalbablagerungen besonders in den geraden Harnkanälchen gefunden in Gestalt von kohlensaurem und phosphorsaurem Kalk. Dabei tritt starke Diurese, Verarmung der Knochen an Kalksalzen auf. Die Reizung der Nierenepithelien, welche zu dieser Diurese führt, beruht vielleicht auf einer Einwirkung der abzuscheidenden Kalksalze, da ja auch bei Eingabe von Kalksalzen Diurese erfolgt, wenn auch nicht in demselben Maasse wie bei Quecksilberwirkung, wobei aber die geringe Menge des bei Eingabe von Kalkpräparaten resorbirten und ausgeschiedenen Kalks zu berücksichtigen ist.

Bei der Beurtheilung der Kalkausscheidung wäre dann noch zu beachten, dass das Alter der Kranken eine gewisse Rolle dabei spielt. Denn nach Hirschberg[1]) scheiden alte Leute wenig Kalk aus, namentlich wenn sie an der Arteriosklerose leiden.

Es scheint nun ferner noch ein Moment für den Kalkgehalt des Körpers und die Ausscheidung desselben in Betracht zu kommen, welches bis jetzt kaum berücksichtigt wurde, nämlich die Muskelthätigkeit des Körpers. Wir sehen ja, dass Knochen, welche nicht mehr fungiren, da die sich an ihnen ansetzenden Muskeln gelähmt sind, schwinden, oder, wenn sie noch in der Entwickelung begriffen sind, mangelhaft sich ausbilden.

Auch eine von Herrn Professor Quincke gemachte Beobachtung spricht dafür. Ein etwa 8jähriges Mädchen, das wegen Spondylitis auf der medicinischen Klinik in Bern Monate lang bettlägerig war, zog sich, als die Compressionsmyelitis zu Contracturen der Unterextremitäten führte, durch die blosse Muskelaction eine Oberschenkelfractur zu. Das Kind bekam nun längere Zeit Kalksalze als Medicament. Einige Monate später, als die Oberschenkelfractur geheilt und auch die Spondylitis und die Lähmung erheblich gebessert waren, gingen dem Kinde durch die Urethra zwei spindelförmige Kalkconcremente ab, die augenscheinlich aus dem Nierenbecken stammten und wohl der erhöhten Ausscheidung von Kalksalzen ihren Ursprung verdankten. Wenn es auch zweifelhaft blieb, ob diese Concremente dem aus den Knochen resorbirten oder

---

[1]) Referirt: Centralbl. f. d. med. Wissenschaften, 1878, S. 90.

medicamentös gereichten Kalk entstammten, so wies die Entstehung der «Spontan»-Fractur doch auf hochgradige Atrophie des Femur hin.

Die beiden Concremente wogen zusammen 1,02 gr.

Eines der beiden Concremente habe ich analysirt. Es bestand innen aus einer weissen, weichen, kreideartigen Masse, um die sich eine dünne, harte, gelbliche Rindenschicht gebildet hatte.

Sie sind pyramidal zugespitzt, wie Steine aus dem Nierenbecken.

Die Analyse ergab 28,2% Ca, 52,3% PO_4, 0,3% Mg, 0,5% Harnsäure.

Beim Uebergiessen mit Salzsäure trat nur ganz geringes Aufbrausen ein. Es bestand der Stein also zu etwa 70% aus phosphorsaurem Kalk.

Aehnliche Kalkablagerungen, aus phosphorsaurem und kohlensaurem Kalk bestehend, sind schon öfters beschrieben worden, zum Theil werden sie auf den starken Kalkgehalt des Trinkwassers zurückgeführt, zum Theil waren sie aus einem Schwund der Knochensubstanz, wie in einem von Virchow[1]) beschriebenen Fall von Knochenkrebs, zu erklären.

Es schien daher von Interesse zu sein, den Kalkgehalt des Urins bei Kranken zu untersuchen, welche längere Zeit unthätig im Bett liegen mussten, um zu sehen, ob eine Zunahme der Kalkausscheidung dabei auftritt, entsprechend einer Verarmung der Knochen an Kalksalzen.

Ich bestimmte den Kalkgehalt des Urins, indem ich, nach Neubauer, mit Ammoniak die Erdphosphate ausfällte, dann wieder mit Essigsäure löste, etwas erwärmte, mit oxalsaurem Ammonium das Calcium als oxalsauren Kalk ausfällte, abfiltrirte, trocknete, glühte und nun entweder die Asche mit $^1/_2$-Normal-Salzsäure löste, diese dann zurücktitrirte und aus dem Verlust die Kalkmenge berechnete, oder den Tiegel bis zur Gewichtsconstanz am Gebläse glühte und das so entstandene Calciumoxyd wog.

Diese Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt, berechnet als neutraler phosphorsaurer Kalk.

[1]) Virchow's Archiv, Bd. 8, S. 104.

	Datum.	Urinmenge.	Spec. Gew.	Tägliche Kalkmenge berechnet als $(PO_4)_2Ca_3$.	Bemerkungen.
1. B., 35 Jahre, Ganglion pedis, Ulcera pedis.	29.—31. XII. 88	1050	1020	0,698	Dieselbe Kost (I. Form), wie 2, 3 und 4. Liegt.
	2.—7. I. 89	1125	1019	0.563	
	8.—12. I. 89	1184	1022	0,750	
2. K., 46 Jahre, Ulcus cruris sinistr.	29.—31. XII. 88	1340	1025	0,844	Liegt.
3. W., 46 Jahre, Panaritium.	29. XII. bis 1. I. 89	915	1027	0,320	Geht umher.
4. K., 19 Jahre, Fractura cruris complicata.	2.—7. I. 89	1074	1022	0,811	Liegt. Seit dem Mai 88 bestehend.
	8.—12. I. 89	1080	1023	0,635	Extraction eines Sequesters.
5. R., 46 Jahre, Ulcus cruris.	7.—9. X. 89	1200	1019	0,3088	Dieselbe Kost (I. Form), wie 6, 7 und 8. Liegt seit 11 Tagen.
6. M., 18 Jahre, Hydrops genu.	7.—10. X. 89	1230	1021	0,4708	Liegt seit 6 Tagen.
7. P., 37 Jahre, Contusion des Vorderarms.	7.—9. X. 89	1300	1017	0,6408	Liegt seit 8 Tagen.
8. K., 27 Jahre, Verbrennung Rückens.	7.—9. X. 89	1380	1015	0,7254	Liegt seit 5 Tagen.

9. L., 56 Jahre, Ulcus cruris.	19.—21. XII. 89	1378	1020	0,2811	Dieselbe Kost (I. Form), wie 10, 11 und 12. Liegt.
10. Sch., 31 Jahre, Contusio abdominis.	19.—21. XII. 89	1270	1025	1,0720	Liegt.
11. H., 49 Jahre, Phlegmone manus.	19.—21. XII. 89	1683	1016	0,4354	Geht umher.
12. Q., 31 Jahre, Conquassatio manus.	19.—21. XII. 89	1040	1020	0,3762	Geht umher.
13. B., 33 Jahre, Panaritium pedis.	6.—8. II. 90	1483	1023	0,8100	Dieselbe Kost (I. Form), wie 14. Liegt.
14. G., Conquassatio manus.	6.—8. II. 90	1420	1020	0,3240	Geht umher.
Mittel von 9, 10, 13 . .	—	—	—	0,7210	
» von 11, 12, 14 . .	—	—	—	0,3785	
15. J., 17 Jahre, Spondylitis.	8. IX. 88	1340	1017	0,462	Seit Kindheit Kyphose der Brustwirbelsäule
	10. IX. 88	1190	1016	0,452	
	25. IX. 88	805	1020	0,299	Mittel: 0,404 phosphors. Kalk.
16. K., 18 Jahre, Spondylitis, Scharlach.	11. X. 88	800	1029	0,867	Appetit gut trotz Temperatursteigerung auf 38—39°.
17. F., 21 Jahre, Myelitis.	14. IX. 88	900	1014	1,064	Mässiger Appetit, Körpergewicht abnehmend.
18. R., 22 Jahre, Residuen von Spondylitis.	15. VII. 87	590	1025	0,374	Mittel: 0,581 phosphors. Kalk pro die.
	16. VII. 87	880	1027	0,709	
	17. VII. 87	930	1026	0,612	
	18. VII. 87	960	1019	0,632	

19. L., 28 Jahre, Spondylitis lumbalis.	17. VII. 85	855	1020	0,923	Appetit gut.
	18. » »	690	1019	0,730	Mittel vom 17. II. bis 29. VII.: 0,684 phosphorsaurer Kalk pro die.
	19. » »	1225	1020	1,004	
	20. » »	1325	1014	0,848	
	22. » »	1350	1012	1,107	
	23. » »	1380	1010	0,455	
	24. » »	1350	1012	0,621	
	25. » »	1250	1010	0,475	
	26. » »	1215	1012	0,461	
	27. » »	1290	1013	0,425	
	28. » »	1040	1010	0,537	
	29. » »	1215	1012	0,627	
	5. VIII. »	1630	1010	0,391	Mittel vom 5.—7. VIII.: 0,348 pro die.
	6. » »	1190	1011	0,675	
	7. » »	1350	1014	0,338	
20. M., 41 Jahre, Spondylitis.	22. XI. 85	650	—	0,869	Retentio urinae, daher täglich katheterisirt.
	23. » »	570	—	0,823	
	24. » »	575	—	0,804	2,0 Kalium resp. Natr. jodatum. Appetit schlecht.
	25. und 26. XI.	410	—	0,835	
	27. und 28. XI.	575	—	0,886	Mittel vom 22. XI. bis 4. XII.: 0,860 phosphors. Kalk.
	1. und 2. XII.	1270	—	0,547	
	3. und 4. XII.	1505	—	1,258	
	26. II. 87	1450	—	0,326	

21. P., 14 Jahre, Spondylitis.	19. VI.	1080	1018	0,864	Natrium bicarbonicum 2 gr. pro die.
	22. »	1280	1020	0,883	
	23. »	1080	1021	0,912	Mittel vom 19. VI. bis 3. VII.: 0,803 phosphorsaurer Kalk pro die.
	24. »	975	1020	0,526	
	25. »	1330	1021	0,784	
	27. »	1210	1020	0,872	
	28. »	1175	1020	1,012	
	30. »	1200	1018	0,804	
	1. VII.	1100	1016	0,704	
	2. »	1360	1015	0,761	
	3. »	870	1025	0,713	
	17. »	855	—	0,923	Mittel vom 17.—19. VII.: 0,885 phosphorsaurer Kalk.
	18. »	690	—	0,730	
	19. »	1225	—	1,004	
	30. IX.	1000	1015	0,645	Mittel v. 30. IX. bis 4. X.: 0,634 phosphors. Kalk. Incision einer kleinen fungösen Entzündg. am recht. Mittelfinger. 10 cbcm. Eiter dabei entleert.
	1. X.	1450	1016	0,783	
	2. »	880	1020	0,454	
	4. »	1020	1012	0,657	
	12. »	800	1022	0,475	
	14. »	1380	1017	0,745	Mittel vom 14.—17. X.: 0,500 phosphorsaurer Kalk.
	15. »	1260	1015	0,443	
	16. »	960	1020	0,421	
	17. »	850	1020	0,416	
	21. XI.	780	1019	0,211	Abends geringes Fieber.
	22. »	1450	1014	0,284	Fistelgang am rechten Zeigefinger.
	23. »	1100	1013	0,241	
	24. »	1170	1012	0,310	

22. F., 62 Jahre, Spondylitis?	29. III. 85	1225	—	0,142	2 gr. Jodkalium täglich. 72 Kilo
	30. » »	1013	—	0 313	Körpergewicht.
	31. » »	540	—	0,244	Mittel vom 29. III. bis 3. IV.:
	1. VI. »	990	1014	0,191	0,250 phosphorsaurer Kalk.
	2. » »	1075	1016	0,236	
	3. » »	1360	1014	0,175	
	4. » »	1100	—	—	Jodkalium ab.
	5. » »	1160	—	0,299	
	6. » »	1120	—	—	Angina.
	7. » »	915	—	0,236	Temperatur 40,2°.
	8. » »	785	—	0,101	Körpergewicht 69,9 Kilo.
	10. » »	465	—	0,035	Normale Temperatur.
	11. » »	485	—	0,048	Mittel vom 7—10. IV.: 0,157
	12. » »	500	—	0,038	phosphorsaurer Kalk.
	14. » »	870	—	0,156	2,0 Jodkalium.
	15. » »	1040	—	—	Temperatur 38,5°.
	16. » »	610	—	0,015	Temperatur 39,2°. Bronchitis.
	17. » »	710	—	0,091	Mittel vom 16.—19.: 0,075.
	18. » »	1035	—	0,054	Normale Temperatur.
	19. » »	790	—	0,142	
	20. » »	1070	—	0,055	
	21. » »	930	—	0,121	
	22. » »	990	—	0,076	Körpergewicht 67,7 Kilo.
	23. » »	835	—	0,108	Mittel vom 20.—24.: 0,102
	24. » »	740	—	0,152	phosphorsaurer Kalk.

23	K., 47 Jahre, Spondylitis, Cystitis.	11. IV. 85	1040	1021	0,426	Appetit gut.
		12. » »	870	1017	—	Kali chloric. 3 gr. pro die.
		13. » »	1000	1020	0,258	Mittel vom 11.—14.: 0,383
		14. » »	1060	1020	0,465	phosphorsaurer Kalk.
		15. » »	—	—	—	
		16. » »	590	1026	0,183	Appetitmangel.
		17. » »	960	1025	0.221	Kali chloric. ab.
		18. » »	700	1030	0,266	Mittel vom 16.—19.: 0,210
		19. » »	620	1031	0,173	phosphorsaurer Kalk.
		20. » »	785	1031	0,220	Mittel vom 20.—24.: 0,249
		21. » »	1580	1015	0,163	phosphorsauer Kalk.
		22. » »	1160	1022	0,299	
		23. » »	680	1026	0,211	
		24. » »	1520	1015	0,352	
24.	P., 18 Jahre, Syphilis secund.	26. XI. 88	3900	1010	0,939	Dieselbe Kost (II. Form) wie 25 und 26. 7 Calomelinjectionen zu 0.1 Calomel.
25.	B., 24 Jahre, Syphilis secund.	26. XI. 88	650	1032	0,464	2 Calomelinjectionen.
26.	A., 59 Jahre, Eczema.	26. XI. 88	1100	1019	0,099	
27.	G., 20 Jahre, Syphilis secund.	26. XI. 88	3070	1012	0.500	Dieselbe Kost (III.Form) wie 28. 5 Calomelinjectionen.
28.	G., 22 Jahre, Eczema.	26. XI. 88	600	1021	0 327	
29.	W., 45 Jahre, Syphilis laryngis.	6. XII. 88	1400	1012	0,587	3 Calomelinjectionen.
30.	H., 26 Jahre, Gummata laryngis, Phthisis pulmonum.	13. XII. 88	1210	1016	0,860	7 Calomelinjectionen. Starke Quecksilberwirkung.

In Bezug auf die einzelnen Fälle möchte ich noch einige kurze Bemerkungen machen.

Ich stellte zunächst Untersuchungen an bei einer Reihe von Kranken, die dieselbe Nahrung genossen und keine inneren Leiden, sondern nur kleinere chirurgische Affectionen hatten, und zwar verglich ich die Kalkausscheidung vom selben Tag bei derartigen bettlägerigen Kranken mit derjenigen von Kranken, welche herumgingen, aber unter denselben Ernährungsbedingungen, wie die bettlägerigen, sich befanden.

In der Tabelle sind die Zahlen des ausgeschiedenen Kalks bei den Fällen, wo Ruhe beobachtet wurde, durch stärkeren Druck hervorgehoben.

Ich fand so bei einem Kranken, No. 1, mit Ganglion pedis und Ulcera pedis ohne Knochenbetheiligung, die tägliche Kalkausscheidung, berechnet aus der Urinmenge mehrerer Tage, = 0,563—0,750 gr., also vermehrt, ebenso bei einem Kranken, No. 2, mit Ulcera cruris = 0,844 gr. pro die.

Bei einem Kranken mit einer complicirten Fractur K., No. 4, war die Kalkausscheidung nicht höher, sie betrug 0,635—0,811.

Dagegen war bei einem an Panaritium leidenden Individuum W., No. 3, welches sich unter denselben Ernährungsbedingungen befand, aber nicht continuirliche Bettruhe einhielt, die Ausscheidung normal 0,320 pro die.

Eine zweite Reihe von Analysen machte ich später bei 4 Kranken, welche dieselbe Nahrung während dieser Zeit bekamen.

Bei einem 11 Tage schon zu Bett liegenden Kranken mit Ulcus cruris, No. 5, war die Kalkausscheidung normal = 0,308, etwas gesteigert war sie bei einem mit Hydrops des Kniees seit 6 Tagen liegenden Kranken, No. 6 (0,4708); deutliche Vermehrung fand sich bei einem 8 Tage die Bettruhe beobachtenden Kranken mit Contusion, No. 7, da die Kalkausscheidung 0,6408 pro die betrug, und bei einem Kranken mit ausgedehnter Verbrennung der Haut, No. 8, der 5 Tage

schon zu Bett gelegen hatte und nun eine tägliche Kalkausscheidung von 0,725 zeigte.

Eine weitere ebcnso angestellte Reihe von Untersuchungen lieferte folgendes Ergebniss:

Ein wegen eines Ulcus cruris ohne Knochenbetheiligung zu Bett liegender Kranker, No. 9, hatte 0,281 phosphorsauren Kalk täglich im Urin, ein wegen Contusion des Abdomens liegender Kranker, No. 10, 1,07 dagegen. An denselben Tagen producirte ein nicht bettlägeriger Mann, No. 11, mit Phlegmone der Hand 0,435, ein anderer mit Quetschung der Hand, welcher auch herumging, No. 12, 0,376 gr. pro die.

Dass der Kranke No. 9 nur so wenig Kalk ausschied, mag an seinem Alter, 56 Jahre, liegen.

Endlich verglich ich die Kalkausscheidung eines Mannes, der wegen Panaritium pedis das Bett hütete, No. 13, mit der eines an Quetschung der Hand leidenden, sich bewegenden. Bei ersterem war sie 1,908 pro die, bei letzterem 0,324.

Vergleichen wir das Mittel der Kalkausscheidung dieser letzten Untersuchungen, so finden wir, dass bei den zu Bett Liegenden dasselbe 0,7210 pro die beträgt, bei den Umhergehenden 0,3785. Letzteres entspricht dem auch von anderen Untersuchern aufgestellten Mittel der normalen Kalkausscheidung. Die Ausscheidung des phosphorsauren Kalks bei der Ruhe ist beinahe doppelt so gross, als bei Körperbewegung unter denselben Verhältnissen.

Die Bestimmung der Kalkausscheidung nahm ich nun noch vor bei Kranken, welche durch Lähmung längere Zeit an das Bett gefesselt waren, oder nur geringe Muskelbewegungen ausführen konnten.

Bei einem Mädchen J., No. 15, von 17 Jahren mit Compressionsmyelitis in Folge eines seit der Kindheit bestehenden Gibbus der Brustwirbelsäule und vollständiger Paraplegie der Beine war bei gutem Appetit und längere Zeit eingehaltener Bettruhe die Kalkausscheidung 0,404 pro die im Mittel, also etwas erhöht.

Ebenso war dies der Fall bei dem Kranken K., 18 Jahre alt, No. 16, welcher schon Wochen lang wegen Spondylitis lumbalis das Bett gehütet, dann Scharlach acquirirt hatte. Derselbe schied trotz Fiebers und Milchdiät, allerdings bei relativ gutem Appetit, 0,867 phosphorsauren Kalk pro die aus.

Bei einem Kranken mit Myelitis, F., No. 17, welcher auch das Bett hütete, aber nicht vollständig gelähmt war, war bei mässigem Appetit und Abnahme des Körpergewichts, gemischter leicht verdaulicher Nahrung die Ausscheidung 1,064 pro die, also auch sehr hoch.

Ein 22jähriger Kranker, R., No. 18, ebenfalls mit einer alten Compressionsmyelitis und unvollständiger Lähmung der Beine behaftet, secernirte 0,581 pro die im Mittel, bald nachdem er die vollständige Bettruhe begonnen hatte.

Ein 28jähriger Kranker, L., No. 19, mit Spondylitis lumbalis, ganz unvollkommener Lähmung, starken Schmerzen bei Bewegungen, früher scrophulös, etwas dem Alkoholgenuss ergeben, hatte bei gutem Appetit einige Tage nach Beginn der ruhigen Bettlage eine durchschnittliche Menge von 0,684 phosphorsauren Kalk im Urin.

Während seines Aufenthalts in der Klinik, bei dem sich der Zustand ziemlich rasch besserte, verringerte sich allmählich die Kalkmenge, so dass der Kranke zuletzt fast normale Mengen ausschied.

Auch eine 41jährige Kranke, M., No. 20, mit Spondylitis und Paraplegie, guter Ernährung und noch ziemlich jugendlichem Aussehen, welche täglich 2 gr. Jodkalium bekam, dabei schlechten Appetit hatte, katheterisirt werden musste, zeigte trotz geringer Nahrungsaufnahme eine sehr constante Vermehrung der Kalksalze im Urin: sie schied 0,860 gr. durchschnittlich pro die aus. Nach einigen Monaten war dagegen die Kalkausscheidung anscheinend eine ziemlich normale, obwohl die Lähmung sich nicht gebessert hatte und eine beginnende Lungentuberculose nun vorlag, welche nach Senator zur Vermehrung beitragen sollte.

Auch bei einem anderen Spondylitiskranken war eine deutliche Vermehrung der Kalkausscheidung wahrzunehmen: Bei einem Knaben, P., No. 21, von 14 Jahren mit Spondylitis cervicalis und fast vollständiger Paraplegie fand sich eine mittlere Kalkausscheidung von 0,803 pro die. Auch einen Monat später wurden noch 0,885 ausgeschieden. Zweieinhalb Monate später, als sich am rechten Zeigefinger eine fungöse Knochenentzündung ausgebildet hatte, war die Ausscheidung noch 0,634. Es wurde durch Incision der Eiter aus der Geschwulst entfernt. Nach zwei Wochen war die Ausscheidung auf 0,5 pro die herabgesunken, und als einen Monat später, nachdem sich ein eiternder Fistelgang am Zeigefinger gebildet hatte, die Temperatur Abends febrile Werthe zeigte, da wurde nur 0,261, also eine ziemlich normale Menge, secernirt.

Hier ist eine deutliche Vermehrung nachzuweisen, die Bildung der fungösen Entzündung scheint die Kalkmenge vermindert zu haben, es könnte aber zugleich eine geringere Nahrungsaufnahme dann stattgefunden haben.

Bei zwei Kranken, welche fast andauernd zu Bett lagen, war keine deutliche Vermehrung der Kalkausscheidung nachzuweisen, doch handelt es sich in dem einen Fall um einen Mann von 62 Jahren, No. 22, so dass auch durch das Alter die weniger ausgesprochene Kalkausscheidung bedingt gewesen sein kann. Derselbe litt nach Contusion der Kreuzgegend an Schmerzen, welche an beginnende Myelitis denken liessen; doch waren keine vollständigen Lähmungserscheinungen vorhanden. Er erhielt 2 gr. Jodkalium täglich und schied in der ersten Zeit 0,25 phosphorsauren Kalk im Mittel pro die aus. Es trat dann eine Angina mit Temperatursteigerung bis auf 40° ein; während dieser sank die Kalkmenge allmählich auf 0,035 pro die, zum Theil wohl bedingt durch die mangelhafte Nahrungsaufnahme.

Bei wieder eingetretener normaler Temperatur hob sich die Menge wieder auf 0,156, sank dann auf 0,015, da eine fieberhafte Bronchitis begann, war während derselben immer ziemlich gering, im Mittel 0,075, stieg dann wieder während der Folgezeit bei normaler Temperatur auf 0,152.

Da nach Neubauer normaler Weise 0,31—0,37 phosphorsauerer Kalk im Mittel ausgeschieden werden, so erscheint bei diesem Kranken die Kalkmenge im Urin vermindert. Dabei ist aber zu berücksichtigen, dass das Körpergewicht während der Beobachtungszeit von 72 auf 67,7 Kilo abgenommen hatte, der Kranke also wohl nicht genügend Nahrung zu sich genommen hatte, dass er ausserdem alt war und bei älteren Leuten weniger Kalk ausgeschieden wird als bei jüngeren.

Bei einem anderen Kranken, K., 47 Jahre alt, No. 23, lag ein Spondylitis vor. Der Kranke war früher scrophulös gewesen, hatte zugleich eine leichte Cystitis und Blasenlähmung, sonst keine vollständige Lähmung.

Sein Appeit war gut im Anfang. Er schied in den ersten Tagen 0,383 phosphorsauren Kalk aus, also eine etwas das normale Mittel übersteigende Menge. Dann trat Appetitmangel ein, und es sank wohl in Folge dessen die Kalkmenge auf 0,173, hob sich dann wieder auf 0,352, einen normalen Werth. Bei ihm war also auch keine Vermehrung, sondern eine ziemlich normale Kalkausscheidung zu constatiren.

Ueberblickt man die geschilderten Analysen der Kalkausscheidung im Urin, so zeigt sich eine deutliche Vermehrung des phosphorsauren Kalks im Urin bei der Ruhe; nur wenige Ausnahmen sind vorhanden, die sich ungezwungen aus mangelhafter Nahrungsaufnahme oder aus dem Alter der Kranken erklären lassen.

In einigen Fällen, wie bei No. 19, 20 und 21, macht es den Eindruck, als wenn diese Vermehrung allmählich zurückgeht, um zuletzt normalen Werthen Platz zu machen, als wenn ein Ueberschuss an Kalksalzen bei eingetretener Ruhe nach und nach entfernt würde, bis der Körper sich wieder in das Gleichgewicht gesetzt hat. Und diese Abnahme ist zu constatiren trotz Hinzutretens von Knochencaries und Lungenaffectionen, die sonst eine Vermehrung herbeiführen.

Anhangsweise möchte ich noch erwähnen, dass im Einklang mit den Untersuchungen von Saikowsky, von

Prevost und Frutiger[1]), welche erhöhte Kalkausscheidung in den Nieren beobachteten bei Einverleibung von Sublimat in den Thierkörper, ich eine deutliche Vermehrung des Kalks im Urin unter Einwirkung der jetzt üblichen Calomel-Oelinjectionen gesehen habe.

So schieden bei derselben Ernährung am selben Tage zwei syphilitische Mädchen, die eine, No. 24, nachdem sie 7 Injectionen zu 0,1 Calomel erhalten hatte, 0,939 pro die aus, die andere, No. 25, welche 2 Injectionen erhalten, 0,464, während eine alte Frau, No. 26, bei derselben Nahrung am selben Tage nur 0,099 phosphorsauren Kalk im Urin secernirte.

Ein drittes syphilitisches Mädchen, No. 27, welches 5 Calomelinjectionen zu 0,1 erhalten, schied 0,5 phosphorsauren Kalk aus, während ein gleichaltriges gut genährtes Mädchen, No. 28, welches kein Quecksilber erhielt, am selben Tag bei derselben Kost 0,327, also eine normale Menge, secernirte.

Auch eine Frau von 41 Jahren, No. 29, hatte nach 3 Calomelinjectionen zu 0,1 Calomel in Pausen von 5 Tagen 0,587 phosphorsauren Kalk in der täglichen Urinmege.

Ein Mann mit starker Quecksilberintoxication in Folge von Calomelinjectionen, No. 30, schied 0,860 phosphorsauren Kalk pro die aus.

Wie der Vergleich der bei den mit Calomel behandelten Kranken beobachteten Kalkausscheidung mit den Werthen bei Individuen, welche unter denselben Ernährungsbedingungen standen, zeigt, handelt es sich also um eine sehr deutliche Steigerung der Kalkausfuhr durch die Nieren, und da dabei immer deutliche Steigerung der Diurese[2]) zu beobachten war,

[1]) A. a. O.

[2]) Die stärkere Diurese pflegte sich schon bald nach der ersten Calomel-Oelinjection einzustellen, nahm allmählich im Verlauf der Behandlung mit der Zahl der Injectionen zu und blieb nach dem Aussetzen derselben noch längere Zeit bestehen. Bei rascher Aufeinanderfolge der Injectionen trat die Diurese stärker auf, die Kranken nahmen dementsprechend auch grössere Mengen von Flüssigkeit zu sich. Das specifische Gewicht war gewöhnlich ein verhältnissmässig hohes, wohl auf der starken Salzausscheidung beruhend. Trat Diarrhoe auf, so war die Urinmenge natürlich nicht so gross. Das Körpergewicht nahm allmählich dabei ab.

so könnte man sich vorstellen, dass die Erhöhung der Urinsecretion durch die grössere Menge der auszuscheidenden Kalksalze bewirkt würde.

Aus den mitgetheilten Analysen scheinen sich mir hauptsächlich folgende Schlüsse ziehen zu lassen:

Bei länger dauernder Bettruhe tritt eine deutliche Zunahme der Kalkausscheidung in den meisten Fällen ein. Allmählich scheint dann die Kalkmenge wieder abnehmen zu können, so dass zuletzt fast normale Werthe erreicht werden. Bei fieberhaften Erkrankungen findet eine Abnahme statt, wohl zum Theil durch die mangelhafte Nahrungsaufnahme bedingt. Injectionen von Calomel führen zu erhöhter Ausscheidung von Kalk im Urin.

Ueber Blut und Harn eines Falles von Melanotischem Sarkom.

Von

F. Hoppe-Seyler.

Von einem Falle leicht blutenden melanotischen Sarkom an der linken Wange, welcher im Herbst vorigen Jahres in der Klinik des Herrn Professor Lücke hier zur Beobachtung kam, erhielt ich durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. Fr. Fischèr ausser grossen Quantitäten des Harnes zwei direct aus der leicht blutenden Geschwulst aufgefangene Portionen von reinem Blut. Die eine kleinere Portion des Blutes wurde zu qualitativen Untersuchungen benutzt, die grössere, 22,5319 gr. betragende, diente zu einer Totalanalyse. Nach ungefähr 12stündigem Stehen in verschlossenem Gefäss bei niederer Temperatur hatte sich der Blutkuchen in dieser letzteren Portion so gut abgeschieden, dass 9,3916 gr. Serum rein und klar abgegossen werden konnten. Das Blutserum ist dann nach der in meinem physiologisch-chemischen analytischen Handbuche, 5. Auflage, § 263, Seite 423—426 angegebenen Methode analysirt. Der Blutkuchen wurde zerdrückt mit dem Glasstabe und mit einer Portion $^1/_{10}$ gesättigter Chlornatriumlösung gut zusammengerührt, dann abgegossen, so dass die Gerinnsel zurückblieben, aber viele Blutkörperchen mit der Salzlösung abgegossen wurden. Dieses abgegossene Gemenge von Salzlösung und Blutkörperchen und Serum wurde durch Stehenlassen, unterstützt durch Centrifugiren, sehr bald zum völligen Absetzen der rothen Blutkörperchen gebracht. Nach Abgiessen der klaren Salzlösung wurden die Blutkörperchen noch zweimal mit erneuter Salzlösung aufgerührt und zum Absetzen der Blutkörperchen centrifugirt

und stehen gelassen. Dann wurde der Blutkörperchenniederschlag in Wasser gelöst, die wässrige Lösung genau gemessen und in zwei gemessene Theile getheilt, von denen der viel grössere zur Bestimmung der Bestandtheile nach § 263 meines oben citirten Handbuches, der kleinere zur optischen Bestimmung des Blutfarbstoffs diente. Die Gerinnsel mit dem Flüssigkeitsrest, von denen das Gemenge von Blutkörperchen und Salzlösung abgegossen war, wurden gleichfalls mit Wasser behandelt und so lange mit neuen kleinen Wasserquantitäten die zerdrückten Gerinnsel gewaschen, als noch etwas aus ihnen in die wässrige Lösung überging. Die Gerinnsel wurden dann mit Alkohol und Aether gewaschen, darauf getrocknet gewogen. Die wässrigen Auszüge vereinigt gemessen und in zwei gemessene Theile getheilt, von denen der grössere nach § 263 analysirt, der kleinere zur Blutfarbstoffbestimmung auf optischen Wegen analysirt wurde. Die Bestimmung der Quantität der anorganischen Salze in den Blutkörperchen war bei diesem Gange nicht ausführbar (und eine besondere Blutportion zur Bestimmung der anorganischen Salze des ganzen Blutes stand nicht zur Verfügung), aber dieser Mangel kann nicht sehr in's Gewicht fallen; im Uebrigen ist die Analyse des Blutes mit befriedigender Genauigkeit gelungen und in den erhaltenen Resultaten, wie ich glaube, zum ersten Male mit einiger Sicherheit die quantitative Zusammensetzung des Menschenblutes zu übersehen.

Dasselbe besteht in 1000 Gewichtstheilen aus:

I. Rothe Blutkörperchen 320,99 Gewichtstheile, welche bei der Analyse ergeben haben:

Oxyhämoglobin	129,70	Gew.-Thle.	
Albuminstoffe	0,26	»	
Lecithin	0,52	»	Aetherauszug
Cholesterin	1,83	»	2,96 Gew.-Thle.
Alkoholauszug	0,51	»	
Wasserauszug	2,48	»	
Feste organische Stoffe. .	135,91	Gew.-Thle.	
Wasser u. anorgan. Stoffe .	185,08	»	
Summe .	320,99	Gew.-Thle.	

II. Plasma des Blutes 679,01 Gewichtstheile, welche bei der Analyse geliefert haben:

Fibrin + Stoffe farbloser Blutkörperchen . . .	13,89	Gew.-Thle.
Blutserum	665,12	»

Aus diesem Blutserum sind erhalten:

Albuminstoffe	45,01	Gew.-Thle.
Lecithin	1,545	»
Cholesterin	0,435	»
Fette	2,310	»
Alkoholauszug	1,08	»
Wasserauszug	1,45	»
Anorganische Salze . . .	5,01	»
Feste Stoffe	56,84	Gew.-Thle.
Wasser	608,28	»
Summe .	665,12	Gew.-Thle.

Die Zusammensetzung der rothen Blutkörperchen, für 1000 Gewichtstheile derselben berechnet, ergiebt:

Oxyhämoglobin	404,06	Gew.-Thle.	
Albuminstoffe	0,81	»	
Lecithin	1,62	»	Aetherauszug
Cholesterin	5,70	»	7,32
Alkoholauszug	1,59	»	
Wasserauszug	7,72	»	
Feste organische Stoffe . .	423,41	Gew.-Thle.	
Wasser u. anorgan. Stoffe .	576,59	»	
Summe .	1000,00	Gew.-Thle.	

Die Zusammensetzung des Blutserums, für 1000 Gewichtstheile berechnet, ergiebt:

Albuminstoffe	67,68	Gew.-Thle.
Lecithin	2,323	»
Cholesterin	0,654	»
Fette	3,473	»
Alkoholauszug	1,63	»
Wasserauszug	2,18	»
Anorganische Salze . . .	7,53	»
Feste Stoffe	85,47	Gew.-Thle.
Wasser	914,53	»
Summe .	1000,00	Gew.-Thle.

Die Bestimmung des Gehaltes an Blutfarbstoff ist nach zwei verschiedenen Methoden ausgeführt, nämlich 1. mit dem Spectrophotometer, welches Hüfner im letzten Jahre beschrieben hat, einem Instrumente, das alle früher für diesen Zweck benutzten Apparate an Genauigkeit, wie es der Erfinder desselben mit Recht hervorgehoben hat, weit übertrifft, und 2. mit einem kleinen Apparate, den man «colorimetrische Doppelpipette» nennen kann, in welchem Farbstofflösungen entweder in durchfallendem weissen Lichte oder vor dem Spectralapparate viel besser als in anderen Apparaten verglichen werden können, weil wie im Bilde des Biquarz im Soleil'schen Saccharimeter die beiden Farbstofflösungen von gleicher Dicke ihrer Schicht nur durch eine scharfe Linie getrennt erscheinen. Denselben grossen Vortheil bietet in vortrefflicher Weise der Albrecht'sche Glaskörper vor dem Spalte des neuen Hüfner'schen Spectrophotometers. Ich hoffe bald Gelegenheit zu haben, die oben erwähnte colorimetrische Doppelpipette zu beschreiben. Es möge hier genügen noch anzugeben, dass, nachdem in der Doppelpipette die passend verdünnten Farbstofflösungen (Normallösung von Kohlenoxydhämoglobin und die verdünnten mit Kohlenoxyd behandelten Lösungen der Blutkörperchen oder des Wasserauszugs vom Blutkuchen) direct mit und ohne Fernrohr beobachtet und gleich befunden waren, die Prüfung mit dem Hüfner'schen Apparate mehrfach ausgeführt wurde. Die Doppelpipette kann hierbei einfach an die Stelle des Glaskästchens für die Farbstofflösung gestellt werden. Ich glaube hiermit einen relativ hohen Grad der Genauigkeit dieser photometrischen Bestimmung erreicht zu haben.

Die Quantität der in den rothen Blutkörperchen gefundenen Eiweissstoffe ist verschwindend gering und liegt innerhalb der Fehlergrenzen. Der Werth derselben wird in seiner Genauigkeit beeinflusst durch die Bestimmung 1. des Gewichtes der in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen organischen Stoffe der gesenkten Blutkörperchen, und 2. der optischen Bestimmung des Blutfarbstoffgehaltes. Eine Reihe derartiger Bestimmungen der Bestandtheile gesenkter isolirter

Blutkörperchen aus Pferde-, Hundeblut und dem Blute erwachsener Menschen hat ergeben, dass die Quantität dieser Eiweissstoffe stets gering gefunden wird. Die anorganischen Stoffe der Blutkörperchen sind, wie bereits besprochen, unbestimmt geblieben. Dieser Mangel erscheint unwesentlich, weil der Salzgehalt der Blutkörperchen sehr gering ist.

Der Werth des Lecithins, welcher für die Blutkörperchen gefunden ist, erreicht bei Weitem nicht die sonst gefundene Höhe. Insbesondere ergeben die Bestimmungen von Manasse[1]) viel höhere Werthe. Die gewogenen Quantitäten des Alkoholauszugs, des gesammten Aetherauszugs sind aber gleichfalls gering; trotz der kleinen Quantität Magnesiumpyrophosphat, aus dem jener Werth berechnet ist, kann sonach ein bedeutenderer analytischer Fehler nicht zu Grunde liegen, weil sonst diese Extractgewichte sich grösser erwiesen haben müssten.

Der gefundene Gehalt an Fibrin ist entschieden zu hoch und ungenau. Ich habe mich bei vielen ähnlichen Bestimmungen überzeugt, dass beim Auswaschen der Blutkuchen richtige Werthe für den Fibringehalt nie gefunden werden, weil nicht allein die Globulinsubstanz des Serum nie vollständig ausgewaschen wird, sondern auch farblose Blutkörperchen und in Wasser nicht gelöste rothe Blutkörperchen darin zurückbleiben. Die übrigen gefundenen Werthe können durch diese Unvollkommenheit nicht wesentlich beeinflusst sein.

Vergleicht man die gefundene Zusammensetzung dieses Blutes mit den Ergebnissen früherer Bestimmungen, so ergiebt sich im Ganzen ziemliche Uebereinstimmung. Für das ganze Blut habe ich vor längerer Zeit eine Analyse von Schröpfkopfblut einer an Chylurie leidenden Frau publicirt[2]), welche hier in Vergleich gestellt werden mag.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XIV, S. 450—452, 1890.

[2]) Hoppe-Seyler, Med.-Chem. Untersuchungen, S. 551, 1869.

Es wurden gefunden für 1000 Gewichtstheile Blut:

	Chylurie:	melanot. Sarkom:
Oxyhämoglobin . . .	149,60	129,70
Albuminstoffe . . .	33,54	59,16
Lecithin	3,48	2,065
Cholesterin	1,58	2,265
Fette	1,70	2,310
Alkoholauszug . . .	2,20	1,59
Wasserauszug . . .	4,14	3,93
Anorganische Salze .	6,98	5,01 [1]
Feste Stoffe	203,22	206,64
Wasser	796,78	793,36

In 1000 Gewichtstheilen Serum sind gefunden:

	Chylurie:	melanot. Sarkom:
Albuminstoffe . . .	57,76	67,68
Lecithin	2,67	2,323
Cholesterin	1,28	0,654
Fette.	3,59	3,473
Alkoholauszug . . .	1,59	1,63
Wasserauszug . . .	4,03	2,18
Anorganische Salze .	9,84	7,53
Feste Stoffe	77,46	85,47
Wasser	922,54	914,53

Der für das Oxyhämoglobin gefundene Werth in der Analyse des Chylurieblutes ist offenbar zu hoch, wie in den damals beigefügten Erklärungen bereits hervorgehoben ist. Hiermit steht in Uebereinstimmung die niedrige Zahl für die Albuminstoffe. Die Summe von Oxyhämoglobin und Albuminstoffen giebt in beiden Analysen fast den gleichen Werth (183 für Chylurie, 189 für Sarkom). Im Uebrigen ist die Uebereinstimmung genügend.

Im chylurischen Blute war eine Bestimmung des Blutkörperchengehaltes versucht, aber missglückt. Da nun Analysen des Blutes von Menschen nach ähnlichen Methoden und Rücksichten wie die obigen noch fehlen, kann nur eine Vergleichung mit dem Blute vom Pferd, Hund, Rind angestellt werden, soweit es sich um den Gehalt des

[1]) Die Salze der Blutkörperchen fehlen in dieser Summe.

Blutes an rothen Blutkörperchen und den Gehalt der letzteren an Wasser handelt. Es sind gefunden für 1000 Gewichtstheile Blut:

	Pferde-blut[1]:	Hunde-blut[2]:	Rinder-blut[3]:	Menschenblut, melanot. Sarkom:
Rothe Blutkörperchen	**327,78**	**357,03**	**318,7**	**320,99**
Feste Stoffe	128,19	153,77	127,5	135,91
Wasser	199,59	203,26	191,2	185,08
Plasma	**672,22**	**642,97**	**681,3**	**679,01**
Feste Stoffe	67,90	55,97	59,1	56,84
Wasser	604,32	587,00	622,2	608,28

Bei dieser Vergleichung des Menschen- und Säugethierblutes zeigt merkwürdige Uebereinstimmung:

1. dass das Gewicht der rothen Blutkörperchen, wie sie im circulirenden Blute enthalten sind, ungefähr $^1/_3$ vom Gewicht des ganzen Blutes ausmacht;

2. dass beim Menschenblut ebenso wie im Blute der bezeichneten Säugethiere der Wassergehalt der rothen Blutkörperchen relativ zu andern Organen ein ausserordentlich niedriger ist.

Es enthalten nach den angeführten Analysen die rothen Blutkörperchen:

beim	Menschen	57,7 %	Wasser.
»	Pferd	60,9 »	»
»	Hund	56,9 »	»
»	Rind	60,0 »	»

In Muskeln und Drüsen von Menschen und Säugethieren ist bekanntlich der ungefähre Wassergehalt 75 %.

Man kann wohl gegen diese Vergleichung einwenden, dass das untersuchte Menschenblut keine normale Zusammensetzung gehabt haben möge, weil es von einem zwar kräftigen,

---

[1]) Hoppe-Seyler, Virchow's Archiv, Bd. XII, S. 483.

[2]) Analyse von Hohlbeck, vergl. Hoppe-Seyler. Physiologische Chemie, S. 447.

[3]) G. Bunge, Zeitschr. f. Biologie, Bd. XII, S. 191.

aber schwer kranken Manne entnommen war. Es liegen bekanntlich bereits eine grosse Zahl von Bestimmungen des Oxyhämoglobingehaltes im Blute gesunder Männer vor. Aus ihnen ergiebt sich ein im Durchschnitt etwas höherer Gehalt des Blutes als der hier gefundene von 13 %. Da aber die älteren Oxyhämoglobinbestimmungen durch colorimetrische Methode oder Lichtextinction fast immer zu hohe Werthe ergeben haben durch Lichtabsorption von andern Stoffen in den Blutlösungen neben Oxyhämoglobin (sowie die Eisenbestimmungen zu niedrige), ist meines Erachtens nicht anzunehmen, dass das Gewichtsverhältniss von Oxyhämoglobin und Blutkörperchen zum Gesammtblut wesentlich anders sei, als hier sich ergeben hat.

Irgend etwas Krankhaftes wurde an dem Blute des melanotischen Sarkom nicht gefunden. Das Blutserum war hellgelb und wurde auch beim Stehen an der Luft nicht dunkler. Die mikroskopische Untersuchung ergab die Abwesenheit von dunkelgefärbten Partikeln im Blute überhaupt und besonders in den Blutkörperchen.

Von demselben Falle von melanotischem Sarkom, von welchem das Blut herrührte, das zu den geschilderten Untersuchungen diente, wurden auch grosse Quantitäten Harn zur Untersuchung der die dunkelbraune Färbung bewirkenden Stoffe verwendet. Der frische Harn hatte eine bald mehr röthliche, bald mehr hellbraune Farbe, wurde beim Stehen an der Luft dunkelbraun, noch dunkler beim Erhitzen nach passendem Salpetersäurezusatz. Er enthielt häufig, aher nicht immer viel Urobilin. Aus 500 cbcm. Harn wurde stets eine wägbare Quantität durch Fällen mit Ammoniumsulfat, Lösen in Alkohol und Ausschütteln mit Chloroform nach Wasserzusatz erhalten und nach Reinigung mit etwas Aether gewogen.

Nach verschiedenen vergeblichen Versuchen, den braunen Farbstoff abzuscheiden, wurden grosse Quantitäten des Harns zunächst mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetatat ausgefällt, die Niederschläge gesondert mit Wasser ausgewaschen,

mit Natriumcarbonatlösung zerlegt, die abfiltrirten braunen alkalischen Lösungen mit Schwefelsäure neutralisirt und auf sehr kleines Volumen eingedampft. Es schied sich kein Farbstoff aus. Die von dem reichlich auskrystallisirten Natriumsulfat abgesaugte Flüssigkeit wurde nach Ansäuern mit Essigsäure mehrmals mit Aether ausgeschüttelt. Im Aetherauszug fand sich weder Brenzcatechin, noch Protocatechusäure. Die nach dem Ausschütteln mit Aether verbleibende concentrirte braune wässrige Lösung wurde nun auf dem Wasserbade verdampft, der Rückstand in der Retorte mit dem 10fachen Gewichte Aetzkali und wenig Wasser im Oelbade bis 240° erhitzt und nach Aufhören des Schäumens noch einige Zeit auf dieser Temperatur erhalten. Es gingen während dieser Schmelzung mit den Wasserdämpfen viel Ammoniak und etwas Indol in die Vorlage über. Die beim Erkalten erstarrte Schmelze gab mit Wasser gelöst und sogleich mit Schwefelsäure übersättigt einen braunen amorphen Niederschlag, der sich wenig in Wasser, aber leicht löslich auf Zusatz von ein paar Tropfen Sodalösung erwies. Die saure von dieser Huminsäure abfiltrirte Flüssigkeit gab beim Ausschütteln mit Aether an denselben eine gut wägbare Quantität Protocatechusäure, aber kein Brenzcatechin ab.

Aus dem basischen Bleiniederschlag wurde durch Behandlung mit Natriumcarbonat, Schwefelsäure u. s. w. (wie oben) ein brauner Körper von grosser Löslichkeit in Wasser und dem spectroscopischen Verhalten des Urobilin in geringer Menge erhalten. Er zeigte sich unlöslich in Chloroform, leicht löslich in Alkohol. Seine Isolirung gelang nicht.

Von den Bleilösungen war ein Körper im Harne nicht gefällt worden, der beim Erhitzen mit etwas Salpetersäure noch dunklere Färbung der Flüssigkeit gab, seine Quantität war jedoch nicht bedeutend.

Es befanden sich also im Harne zwei verschiedene Substanzen, welche Dunkelfärbung bewirken konnten, nämlich 1. Urobilin, welches bei Reduction durch Fäulniss und nachheriger Oxydation an der Luft einen braunen Farbstoff bildet, und 2. ein Körper, der einen sehr leicht löslichen braunen

Farbstoff liefert, fällbar durch neutrales Bleiacetat, durch Schmelzen mit Aetzkali unter Ammoniakentwickelung umgewandelt zu Huminsäure und Protocatechusäure. Dieser letztere Körper kann sowohl von einem leicht zersetzlichen Kohlehydrat, als auch von einer aromatischen Substanz wie Brenzcatechin herstammen.

Die beobachtete Indolbildung beim Schmelzen mit Aetzkali bleibt räthselhaft, da Eiweissstoffe nicht zugegen waren.

Ueber Eiweiss im normalen Harn.

Von

Hugo Winternitz.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Strassburg.)

(Der Redaction zugegangen am 31. December 1890.)

Durchgeht man die Litteratur, welche sich mit der Frage der physiologischen Albuminurie beschäftigt, so fällt einem die Unsicherheit des Begriffes «physiologische Albuminurie» auf oder vielmehr die Thatsache, dass die Autoren eine sehr verschiedene Auffassung dieses Begriffes erkennen lassen.

Senator[1]), der die Ansicht vertritt, dass der Urin immer Eiweiss enthalte, aber nur zeitweise in einer für uns leicht erkennbaren Menge, erklärt gleichwohl, dass «physiologische Albuminurie» nicht gleichbedeutend sei mit «normalem Gehalt des Harns an Eiweiss», sondern dass zur physiologischen Albuminurie die Nachweisbarkeit des Albumins im Harn des gesunden Menschen «ohne weitere Vorbereitung, als etwa Filtriren, durch die Eiweissreagentien» gehöre. Posner[2]) dagegen spricht als physiologische Albuminurie die Erscheinung an, dass «in der That einem jeden beliebigen Urin Spuren von Eiweiss beigemischt sind, die sich durch empfindliche Methoden leicht und sicher nachweisen lassen». Diese beiden Auffassungen des Begriffes der physiologischen Albuminurie, die bald mehr bald weniger modificirt bei allen Autoren

---

[1]) Senator, «Die Albuminurie in physiol. u. klin. Beziehung etc.», 2. Aufl., 1890, Seite 34 und an anderen Stellen.

[2]) Posner, Berliner klinische Wochenschrift, No. 41.

wiederkehren, müssen nun streng von einander geschieden werden. Es ist hierbei ein wesentlicher Unterschied zu machen zwischen dem klinischen und dem rein chemischen Standpunkt. Stellt man sich auf den ersteren, so ist die Frage nach der Gesundheit der Versuchsperson, deren Harn untersucht wurde, von der grössten Wichtigkeit, ja der Werth der gefundenen Thatsachen wird einzig davon abhängen, ob die Annahme, dass die Versuchspersonen gesund waren, auch wirklich einwandfrei ist; stellt man sich dagegen auf den letzteren, so fragt es sich nicht, ob die Person gesund ist, sondern es handelt sich einzig darum, ob der zu untersuchende Harn normal ist oder nicht. Ergiebt er nach den üblichen Proben im Reagensglas Eiweissgehalt, so ist er für eine weitere Untersuchung in diesem Sinne ungeeignet, gleichgiltig, ob dieser Eiweissgehalt eine physiologische Ursache (Muskelanstrengung, Erregungszustände, Verdauung etc.) hat oder eine pathologische.

Die Untersuchung der ersten Frage, d. h. der Frage nach der physiologischen Albuminurie im klinisch-statistischen Sinne lag mir fern, um so mehr als die gründlichen und zahlreichen Beobachtungen der verschiedensten Autoren[1]) diese Frage endgiltig im bejahenden Sinne entschieden haben. Anders steht es mit der Frage der physiologischen Albuminurie im chemischen Sinne, mit der Frage, ob jeder beliebige (normale) Harn stets und unter jeder Bedingung Eiweiss enthalten müsse. Von älteren Angaben abgesehen, haben sich mit dieser Frage in letzter Zeit Senator vom theoretischen Standpunkt, Posner[2]) und Leube[3]) vom experimentell-chemischen Standpunkt eingehend beschäftigt. Während jener auf Grund seiner Untersuchungen dieselbe unbedingt bejahen

---

[1]) Die betreffende Litteratur findet man ziemlich erschöpfend angeführt bei Senator, «Die Albuminurie in phys. u. klin. Beziehung etc.», und in v. Norden's Publication «Ueber Albuminurie bei gesunden Menschen», D. Arch. f. klin. Med., Bd. XXXVIII.

[2]) Posner, «Ueber Eiweiss im normalen Harn», Virchow's Archiv, 104. Band, 1886.

[3]) Leube, «Ueber physiologische Albuminurie», Zeitschrift für klin. Medizin, Bd. XIII, H. 1.

zu müssen glaubt, verhält sich Leube skeptischer. Er findet, dass der normale Harn zwar häufig Spuren von Albumin enthalte, dass aber das Eiweiss einen nothwendigen Bestandtheil des normalen Urins ausmache, kann er nicht zugeben. Dieser Umstand und die Ansicht, dass es gelingen würde, den von Posner in seinen Reactionen charakterisirten Eiweisskörper durch Verarbeitung grosser Harnmengen in grösserer Quantität und isolirt von den übrigen Harnbestandtheilen darstellen zu können, veranlasste die im Folgenden zu schildernden systematisch angestellten Untersuchungen.

Um unnöthige Wiederholungen zu vermeiden, sei Folgendes vorausgeschickt: Jeder bei den betreffenden Versuchen in Verwendung genommene Harn wurde vor Allem sorgfältig filtrirt. Dann wurden im Reagensglas die üblichen und unzweideutigsten Eiweissreactionen angestellt und zwar die Probe mit Essigsäure und Ferrocyankalium, die Kochprobe unter Beobachtung der nöthigen Cautelen, meist auch noch die sog. Heller'sche Probe. Ferner wurde die Reaction des Harns geprüft und endlich wurden auch die üblichen Zuckerproben angestellt. Nur wenn der Harn nach jeder dieser Richtungen normal befunden wurde, fand er Verwendung. Beiläufig sei bemerkt, dass ich natürlich bestrebt war, den Harn vollkommen gesunder Personen zur Untersuchung zu erhalten, weil ich nur bei diesen ein normales Verhalten voraussetzen durfte. An sich war aber für meine Untersuchungen, wie schon auseinandergesetzt, die Frage nach der Provenienz des Harns eine gleichgiltige.

Ich gehe jetzt zu der Besprechung der von mir angestellten Versuchsreihen über.

I. Versuchsreihe.

Die Absicht, welcher die Anordnung dieser ersten Versuchsreihe zu Grunde lag, war die, das im normalen Harn event. vorkommende Eiweiss durch Concentration des ersteren auf ein kleines Volumen einzuengen, durch geeignete Fällungsmittel zu suspendiren, dann mit Ausschaltung der störenden

Harnbestandtheile (Harnsäure, Harnstoff, Harnfarbstoff etc.) zu lösen und in diesen Lösungen endlich nachzuweisen. Dabei wurde dem Gedanken, dass das Eiweiss bei dem Vorgange der Concentration gerinnen könnte, aus verschiedenen Gründen zunächst nicht Raum gegeben.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Es wurden 2000 cbcm. Harn auf dem Wasserbade zum dicken Syrup eingedampft. Der eingedampfte Harn wurde hierauf im Becherglas mit ungefähr dem vierfachen Volumen Alkohol versetzt. Dadurch sollten einerseits das etwa vorhandene und durch die Concentration des Harns in ein kleines Volumen eingebrachte Eiweiss gefällt und andererseits die bei den Reactionen ungemein störenden Harnfarbstoffe extrahirt werden. Nach 24stündigem Stehen wurde filtrirt (Filtrat 1), der Rückstand (I) in wenig Wasser gelöst und mit verdünnter Salzsäure bis zur stark sauren Reaction versetzt. Durch die Salzsäure musste einerseits die Ausfällung der Harnsäure bewirkt werden, andererseits aber eine Lösung der bei Gegenwart von Eiweiss durch den Zusatz von Alkohol entstandenen Eiweissniederschläge. Nach 24stündigem Stehen wurde der entstandene Niederschlag (II) filtrirt (Filtrat 2).

Aus theoretisch leicht einzusehenden Gründen musste erwartet werden, dass die event. vorhandenen Eiweissstoffe sich in diesem Filtrat (2) in Lösung befänden (neben anderen Harnbestandtheilen als Ca-, Mg-Verbindungen, Phosphaten etc.); es wurde daher der Untersuchung desselben besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Dasselbe ergab auf Zusatz einiger Tropfen Ferrocyankalium eine kaum wahrnehmbare Trübung, die sich zur Abscheidung auf dem Filter nicht eignete. Da diese Trübung überdies erst bei längerem Stehen in die Erscheinung getreten war, so schien es mehr als zweifelhaft, ob sie auf Eiweiss bezogen werden dürfe. Es wurden daher mit diesem Filtrat noch weitere Eiweissreactionen angestellt, soweit dies in einer salzsauren Lösung möglich ist.

Die sog. Heller'sche Probe, welche im Reagensglas durch vorsichtiges Ueberschichten concentrirter Salpetersäure

angestellt wurde, fiel negativ aus. Es liess sich damit kein in Salpetersäure unlöslicher Eiweisskörper nachweisen.

Ferner wurde eine Portion des Filtrates mit Na_2CO_3 bis zur neutralen Reaction gesättigt und der entstandene Niederschlag filtrirt. Im Niederschlag[1]) konnten bei sorgfältiger chemischer und mikroskopischer Prüfung Eiweissreactionen nicht erhalten werden. (Lösung des Niederschlages in Essigsäure; der lösliche Antheil wurde mit Ferrocyankalium, der unlösliche mikroskopisch auf Eiweiss geprüft.)

Nun ging ich auf das Alkoholextract (Filtrat 1) zurück. In demselben entsteht zwar bei Zusatz von wässeriger Tanninlösung ein reichlicher Niederschlag, man wird indessen vergeblich in seiner essigsauren Lösung nach Eiweiss suchen.

Endlich wurde auch noch der mit I bezeichnete Niederschlag (Harnsäure) geprüft, der durch die Salzsäure gefällt worden war, dabei möglicher Weise das Eiweiss mitgerissen und so seine Lösung in der verdünnten Salzsäure verhindert haben konnte. Er wurde mit Essigsäure ausgewaschen, wobei natürlich die Harnsäure ungelöst blieb. In der essigsauren Lösung fand sich kein Eiweiss.

Diese Versuchsreihe wurde nun — wie dies auch bei den anderen Versuchsreihen geschah — in derselben Anordnung ein- bis zweimal wiederholt, um eine Controle für die Richtigkeit der gemachten Beobachtungen zu gewinnen.

II. Versuchsreihe.

Der negative Ausfall der ersten Versuchsreihe gab Veranlassung, der Ansicht, welche Posner ausgesprochen hat, dass nämlich das im normalen Urin in Spuren vorkommende Eiweiss beim Vorgange der Concentration coagulirt würde, Raum zu geben und in diesem Sinne die zweite Versuchsreihe abzuändern.

---

[1]) Die Untersuchung des Filtrates wurde gleichfalls vorgenommen (Biuretprobe und Millon's Reaction) u. zw. mit negativem Resultat. Dies schien um so natürlicher, als wohl bei der Neutralisation mit Na_2CO_3 alle vorhandenen nicht peptonartigen Eiweissstoffe ausfallen mussten, im Filtrat also nicht mehr vorhanden sein konnten.

Es wurden 2000 cbcm. Harn (bei einer Wiederholung dieses Versuches 2500 cbcm.) auf dem Wasserbade bis zum dicken Syrup eingedampft und hierauf mit dem vierfachen Volumen Alkohol versetzt. Der Zusatz des Alkohols konnte in diesem Falle, wo angenommen wurde, dass das etwa vorhandene Eiweiss durch die Concentration des Harns coagulirt worden sei, natürlich nicht, wie in der ersten Versuchsreihe, den Sinn haben, das Eiweiss zu fällen. Er geschah blos, um den Harnstoff und die störenden Harnfarbstoffe zu extrahiren, andererseits aber auch, um eventuell nicht gerinnbare Eiweissstoffe zu fällen. Denn da über die Natur des zu findenden Eiweissstoffes zunächst nichts bekannt war, so musste die Möglichkeit, dass nicht coagulable Eiweissstoffe darin vorkämen, Berücksichtigung finden, wiewohl gegen diese Annahme eigentlich schon das Resultat der ersten Versuchsreihe sprach.

Der nach 24stündigem Stehen entstandene Niederschlag wurde auf dem Asbestfilter gesammelt. Die Untersuchung des Alkoholextractes konnte in diesem Falle füglich weggelassen werden, denn es hatte sich in Bezug darauf nichts gegenüber der ersten Versuchsreihe geändert. Die Eiweissstoffe mussten sich vielmehr nach der Eingangs dieser Versuchsreihe besprochenen Annahme in coagulirtem Zustande auf dem Asbestfilter befinden.

Nun wurde der Niederschlag auf dem Filter zunächst mit Wasser, dann mit verdünnter Salzsäure gewaschen, um die darin löslichen Salze zu eliminiren. Auf die coagulirten Eiweissstoffe konnte dies keinen Einfluss haben, weil dieselben weder im Wasser, noch in verdünnter Salzsäure — dieselbe wirkte nur so lange auf den Niederschlag ein, als das Filtriren Zeit in Anspruch nahm — löslich sind[1]). Uebrigens wurde, um der Controle halber, sowohl die Untersuchung des wässerigen als auch des salzsauren Auszuges vorgenommen und ergab dasselbe Resultat, wie in der ersten Versuchsreihe. Erwähnt muss indess werden, dass bei einer Wiederholung

---

[1]) Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol.-chem. Analyse, S. 280.

dieser Versuchsreihe in dem mit verdünnter Salzsäure erzielten Auszug durch Ferrocyankalium ein deutlicher, filtrirbarer Niederschlag entstand, der sich jedoch bei näherer Prüfung, deren Methode später besprochen werden soll, als nicht eiweissartiger Natur erwies.

Nun wurde der auf dem Asbestfilter befindliche Rückstand, der sich bereits durch die vorausgegangenen Manipulationen ansehnlich verringert hatte, in tropfenweise zugefügter, concentrirter Salzsäure gelöst (dieselbe liess natürlich die Harnsäure unzerstört) und die durchfiltrirende Flüssigkeit in einem Reagensglas, in dem sich wenige Cubikcentimeter Wasser befanden, aufgefangen. Da coagulirte Albuminstoffe durch concentrirte Salzsäure unter Bildung von Acidalbumin und Pepton gelöst werden[1]), so mussten dieselben in dem so erhaltenen Filtrat ohne Weiteres nachweisbar sein. Als einzig entscheidende und anwendbare Reaction kam hier Ferrocyankalium in Betracht. Dasselbe brachte indess weder einen Niederschlag noch eine Trübung hervor. Erst am nächsten Tage wies die Probe eine deutliche Trübung auf, die filtrirt werden konnte und bei näherer Prüfung — wie vorauszusehen war — keine Verbindung von Eiweiss mit Ferrocyanwasserstoff erkennen liess. Bei einer Wiederholung dieser Versuchsreihe wurde statt concentrirter Salzsäure sehr starke Essigsäure gewählt, allein mit demselben negativen Resultat.

Wiewohl ich bei meinen Untersuchungen die 10—20fache Quantität Harn, deren sich Posner bediente, in Verwendung genommen hatte, so gelang es mir sonach doch nicht, den positiven Nachweis für das Vorhandensein von Eiweiss zu erbringen, wenigstens nicht bei den zu diesen Versuchen verwendeten Harnen. Da ich mich indess einer anderen Methode bedient hatte — gegen die indess kaum etwas einzuwenden sein dürfte —, so sah ich mich, um den Widerspruch zwischen den Resultaten meiner Untersuchungen und den Posner'schen zu lösen, veranlasst, zunächst die Versuche Posner's zu wiederholen.

---

[1]) Hoppe-Seyler, ebenda.

Zu diesen in grösserer Anzahl angestellten Versuchen wurde der Harn verschiedener Personen und zwar stets in einer Quantität von 150—200 cbcm. verwendet. Der Harn wurde nach dem Vorgange Posner's mit dem dreifachen Volumen Alkohol versetzt. Nach 24- bis 48stündigem Stehen wurde der Niederschlag, der sich indessen meist klar und deutlich abgeschieden hatte, auf einem kleinen Filter gesammelt. Beiläufig sei bemerkt, dass ich Gerbsäure zur Fällung nicht verwendet habe, weil sie einerseits, wie Posner ausführt, keine Vortheile vor dem Alkohol hat, jedenfalls aber den Nachtheil, dass sie in ihren Niederschlag weit mehr normale Harnbestandtheile einbezieht als der Alkohol. Nachdem ich den Niederschlag auf dem Filter sorgfältig in Wasser ausgewaschen hatte und dadurch die im Wasser löslichen Antheile beseitigt waren, wurde der Rückstand mit verdünnter Essigsäure behandelt. In der essigsauren Lösung erzielte ich auf Zusatz einiger Tropfen Ferrocyankalium eine mehr oder weniger deutliche Trübung, die sich nach kurzer Zeit als feiner Niederschlag absetzte. In den meisten Fällen gelang es, bei sofortigem Filtriren ein klares Filtrat und auf dem Filter einen mehr oder weniger erheblichen, grün-blauen Belag, der sich an der Luft bald intensiver blau färbte, als Rückstand zu erhalten. Es handelte sich nun darum, diese Ferrocyanverbindung auf ihre eiweissartige Natur zu prüfen. Die Schwierigkeit einer solchen Prüfung liegt nun darin, dass das Ferrocyankalium durch seine sich bildenden Zersetzungsproducte die meisten Reactionen wesentlich beeinträchtigt. Am nächsten lag es, den Niederschlag mit Natronlauge zu behandeln und in der Lösung die Biuretreaction anzustellen. Setzte man zu dem auf einem sehr kleinen Filter gesammelten Niederschlag Natriumhydroxyd hinzu, so löste sich derselbe sofort farblos auf und es filtrirte eine klare Flüssigkeit hindurch. Mitunter musste das Filtrat allerdings mehrmals auf das Filter zurückgebracht werden, ehe es vollständig klar hindurchlief. In der erhaltenen alkalischen Lösung des Ferrocyankalium-Niederschlages wurde die Biuretreaction mit aller gebotenen Vorsicht angestellt. Dieselbe wurde zu-

nächst erwärmt, dann wurde mit der Spitze eines Glasstabes ein Tropfen verdünnter Kupfersulfatlösung hinzugefügt und abermals erwärmt. Trat die Reaction nicht ein, so wurde noch ein weiterer, eventuell ein dritter Tropfen hinzugefügt. Das Resultat war in allen Fällen ein negatives, statt einer violetten Tönung wurde gewöhnlich ein schmutziges Grau oder Blau erzielt. Um die Empfindlichkeit der Biuretreaction — in dieser Weise auf Ferrocyankalium-Niederschläge angewandt — zu prüfen, wurde folgender Weg eingeschlagen: In einigen Cubikcentimetern eines Eiweissharns wurde das Eiweiss durch Essigsäure und Ferrocyankalium gefällt und der erhaltene Niederschlag filtrirt. Hierauf wurde mit der Spitze eines Glasstabes eine kleine Quantität dieses Ferrocyankaliums-Niederschlages vom Filter genommen, in etwa 2 cbcm. Natronlauge gelöst und mit Kupfersulfat in der gleichen Weise, wie oben angegeben, geprüft. Selbsverständlich trat nun die Biuretreaction deutlich ein. Immerhin ergaben weitere Proben, dass, wenn die Quantität des verwendeten Niederschlages allzu gering war — also etwa so viel, als gerade auf der Spitze des Glasstabes Platz fand —, die Reaction ausblieb. Es schien somit der Einwurf nicht unberechtigt, dass die aus 150—200 cbcm. Harn erzielten Ferrocyankalium-Niederschläge zu geringfügig gewesen seien, um die Biuretprobe positiv ausfallen zu lassen.

Somit musste eine Reaction gefunden werden, welche selbst bei den geringfügigsten Niederschlägen geeignet erscheint, um eine Prüfung derselben auf Eiweiss zuzulassen, und welche andererseits für Eiweiss selbst ganz unzweideutig ist.

Es wurde zu diesem Zwecke mit dem im Eiweissharn erhaltenen Ferrocyankalium-Niederschlage folgender Versuch gemacht: Ein kleiner Theil des Niederschlages wurde in concentrirter HNO_3 gelöst und dann mit Millon's Reagens im Ueberschuss gekocht. Der Niederschlag, der sich schon in der concentrirten Salpetersäure mit gelber Farbe gelöst hatte (Xanthoproteinreaction, die übrigens viel zu zweideutig ist, um für unsere Zwecke Verwendung finden zu können), ballte sich beim Kochen zu einem gelben Klümpchen zusammen,

ohne dass die charakteristische Millon'sche Farbenreaction eintrat. Bei Verwendung verdünnter Salpetersäure war der Erfolg derselbe. Es scheint also, dass durch die Salpetersäure nicht allein das Ferrocyankalium — wie beabsichtigt war — zerstört, sondern auch das Eiweiss zu sehr verändert wird.

Nun versuchte ich es, einen kleinen Theil des Ferrocyankalium-Niederschlages direct in Millon's Reagens einzubringen. Derselbe wurde darin nicht gelöst, sondern blieb als kleines Klümpchen in der Flüssigkeit suspendirt. Beim Kochen nahm dieses Klümpchen sofort die für Millon's Reaction charakteristische und ganz unzweideutige braunrothe bis dunkelrothe Färbung an. Controlversuche, die in der Art angestellt wurden, dass ein Tropfen Ferrocyankalium in Millon's Reagens eingebracht und damit gekocht wurde, zeigten, dass eine Täuschung absolut ausgeschlossen ist. Der eingefallene Tropfen Ferrocyankalium ballte sich gleichfalls zusammen, wurde dunkel blaugrün, bei längerem Kochen schien er sich mit gelber Farbe zu lösen und es fiel ein hellgelber Niederschlag zu Boden.

Weitere Versuche, welche der Empfindlichkeit dieser Reaction galten, ergaben, dass der geringste Theil eines Eiweiss-Ferrocyan-Niederschlages, mit der Spitze eines Glasstabes in Millon's Reagens eingebracht, beim Kochen sofort die charakteristische Färbung annimmt. Von Wichtigkeit, namentlich für die feinen Niederschläge, um die es sich bei diesen Versuchen handelt, dürfte folgende Verwendung der Reaction sein, welche es ermöglicht, allerfeinste Niederschläge, bei denen man kleine Theile nicht gut vom Filter herunterbringen kann, direct auf dem Filter mit Millon's Reagens zu prüfen. Man kocht zu diesem Zweck 1—2 cbcm. von Millon's Reagens und bringt sie direct auf das Filter. Unter der Einwirkung des kochenden Reagens wird das Filter, soweit es von feinsten Theilchen des Ferrocyankalium-Niederschlages bedeckt ist, rosaroth bis dunkelroth. Handelt es sich um keine Eiweissverbindung, so wird der Niederschlag unter der Einwirkung des heissen Reagens gelb, so wie

dies nach dem vorher geschilderten Controlversuche zu erwarten stand.

Wendet man nun diese Reaction bei den durch das Posner'sche Verfahren entstandenen Ferrocyankalium-Niederschlägen an, so überzeugt man sich leicht, dass dieselben nicht eiweissartiger Natur sind. Nur einmal erhielt ich die Reaction an einem kleinen Theil des Niederschlages, den ich mit der Spitze eines Glasstabes in Millon's Reagens eingebracht hatte. Ich benutzte nun den Rest des Niederschlages, um ihn in Natronlauge zu lösen und damit die Biuretreaction anzustellen. Auch diese ergab ein positives Resultat. Der Niederschlag war also eine Eiweissverbindung. Ich werde auf diesen Versuch, der mit den übrigen in scheinbarem Widerspruch steht, am Schlusse dieser Arbeit zurückkommen.

Nun seien noch einige Controlversuche angeführt, die für die Beurtheilung des Gegenstandes nicht ohne Interesse sein dürften.

I. 200 cbcm. normalen Harns wurden mit einem cbcm. Eiweissharn versetzt. Die so erhaltene Mischung erwies sich den im Reagensglas ausgeführten Untersuchungen gegenüber als «eiweissfrei». Darauf wurden 150 cbcm. abgemessn, mit 450 cbcm. Alkohol gefällt und in der früher geschilderten Weise weiter behandelt. Der in der essigsauren Lösung durch Ferrocyankalium erzielte Niederschlag — derselbe schien keineswegs grösser als in den übrigen Fällen, zeigte dagegen eine weniger blaugrüne, sondern mehr milchig getrübte Färbung — wurde filtrirt. Ein kleiner Theil des auf dem Filter gebliebenen Rückstandes wurde mit der Spitze eines Glasstabes in Millon's Reagens gebracht, der Rest in Natronlauge gelöst und mit Kupfersulfat behandelt. Beide Proben ergaben deutlich die Anwesenheit von Eiweiss. Die nachträglich vorgenommene quantitative Eiweissbestimmung des Harns[1]), von dem 1 cbcm. in der oben angegebenen Weise verwendet wurde, ergab 0,685 % Eiweissgehalt. Die 200 cbcm. Harn enthielten sonach, bei Zusatz 1 cbcm. Eiweissharns,

---

[1]) Dieselbe wurde nach der Methode von Scherer ausgeführt.

0,00685 Eiweiss, oder in % ausgedrückt: 0,00342% Eiweissgehalt.

II. Einige cbcm. des zum Versuch 1 verwendeten Eiweissharns wurden mit ebenso viel cbcm. destillirten Wassers versetzt; von dieser Mischung wurde nun wieder ein cbcm. zu 200 cbcm. Harn zugesetzt. Dieser Harn enthielt sonach — da der nun zugesetzte Eiweissharn einen Eiweissgehalt von 0,3425% hatte und 1 cbcm. davon zugesetzt worden war — in 200 cbcm. 0,003425 Eiweiss, oder in % ausgedrückt: 0,00171% Eiweiss.

150 cbcm. des so erhaltenen Harns wurden nun in der nämlichen Weise, wie dies für I auseinandergesetzt wurde, behandelt. Der Ferrocyankalium-Niederschlag ergab in derselben Weise und ohne dass die Reactionen weniger intensiv ausgefallen wären — diesen Eindruck habe ich wenigstens empfangen — mit Natronlauge und Kupfersulfat einerseits und mit Millon's Reagens andererseits positive Resultate für die Anwesenheit von Eiweiss.

Es wäre nun allerdings von einem gewissen Interesse, zu ermitteln, wie weit die Verdünnung des zugesetzten Cubikcentimeter Eiweissharns getrieben werden respective wie weit man mit der Quantität des zugesetzten Eiweisses heruntergehen könnte, um noch immer positive Reactionen zu erhalten; aber einerseits ging die Untersuchung dieser Frage über den Rahmen der vorstehenden Arbeit hinaus und andererseits ist dies bei der Kleinheit der in Frage kommenden Eiweissmengen von so untergeordneter Bedeutung, dass ich mich in dieser Beziehung mit den beiden angeführten Versuchen begnügen zu dürfen glaubte.

Was die übrigen von Posner in der essigsauren Lösung angestellten Reactionen betrifft[1]), so möchte ich dazu Folgendes bemerken: Denselben dürfte unzweifelhaft nur dann ein Werth beizumessen sein, wenn sie in Uebereinstimmung mit der Ferrocyankalium-Reaction auftreten. Ich selber habe sie nie

[1]) Metaphosphorsäure, Salpetersäure, Phosphorwolframsäure etc.

constant und auch dann meist zweifelhaft auftreten sehen. Was die am Alkoholniederschlag direct angestellte Adamkiewicz'sche Reaction (sowohl vor als nach dem Auswaschen mit Wasser) anlangt, so hat mir dieselbe nur selten versagt. Ob man sie indess auf einen Eiweisskörper (vielleicht auf das von Leube beschriebene Paralbumin oder auf den mucinartigen Körper Hofmeister's) oder auf einen anderen Bestandtheil des Harns zu beziehen hat, dürfte wohl schwer zu entscheiden sein.

Uebersehe ich nun das Resultat meiner im Vorstehenden mitgetheilten Untersuchungen, so befinde ich mich damit in Widerspruch mit der Anschauung Posner's, dass jeder normale Urin Eiweiss enthalte, und ich stütze mich dabei namentlich auf das Ergebniss der von mir mitgetheilten Versuchsreihe II und auf die Thatsache, dass der Posner'sche Ferrocyankalium-Niederschlag bei meinen — allerdings in verhältnissmässig geringer Zahl — angestellten Versuchen nur einmal sich als eine Eiweissverbindung erwies. Ich komme vielmehr zu demselben Schluss, den schon Leube[1]) gezogen hat: Das Vorhandensein von Eiweiss gehört nicht zum Begriff des normalen Urins. Dagegen scheint allerdings das Vorkommen von Eiweiss, wenn auch nur in Spuren, eine keineswegs seltene Erscheinung zu sein. Dafür sprechen die zahlreichen Untersuchungen Posner's und Leube's, dafür glaube ich auch den Versuch ansprechen zu dürfen, bei welchem ich, wie früher mitgetheilt, wider Erwarten Eiweiss im «normalen Harn» fand. Das wird indess um so weniger Wunder nehmen, als ja nach den Angaben Senator's[2]) und anderer Autoren innerhalb «physiologischer Grenzen» Eiweissausscheidungen bis zu 0,4 pro Mille vorkommen können.

---

[1]) Leube, Zeitschrift für klin. Medizin, Bd. XIII, Heft 1.
[2]) Senator, «Die Albuminurie etc.», S. 39.

Ueber das Vorkommen von Mukoïdsubstanzen in Ascitesflüssigkeiten.

Von

Olof Hammarsten.

(Der Redaction zugegangen am 2. Januar 1891.)

Die bisherigen Angaben über das Vorkommen in Ascitesflüssigkeiten von dem Mucin nahe verwandten Stoffen oder Mukoïden, wie ich sie nenne, sind sehr spärlich.

Im Jahre 1871 gab Hilger[1]) an, in einer Ascitesflüssigkeit sogenanntes Paralbumin (welches bekanntlich ein Gemenge von Mukoïd — Pseudomucin — mit Eiweiss ist) gefunden zu haben, und einige Jahre später (1876) fand Gusserow[2]) angeblich auch Paralbumin in der Punctionsflüssigkeit in zwei Fällen von freiem Ascites. Abgesehen davon, dass es unbekannt bleibt, ob in diesen Fällen die Ascitesflüssigkeit nicht etwa mit dem Inhalte einer geborstenen Ovariencyste vermischt gewesen sei, stammen diese Untersuchungen aus einer Zeit, wo man noch keine zuverlässige Methode zum Nachweise des Paralbumins (bezw. des damals unbekannten Pseudomucins) hatte, und aus diesem Grunde kann diesen Angaben keine volle Beweiskraft zuerkannt werden. Nach dieser Zeit sind dagegen zwei Beobachtungen veröffentlicht worden, welche den Anforderungen einer mehr exacten Untersuchung entsprechen, und in welchen, trotzdem, wenn ich

---

[1]) Annalen de· Chemie und Pharmacie, 1871, S. 338.

[2]) Archiv f. Gynäkologie, Bd. IX, 1876, S. 484.

nicht irre, eine besondere Untersuchung auf Glykogen unterlassen wurde, das Vorkommen einer Mukoïdsubstanz in der Ascitesflüssigkeit bei gleichzeitigem Fehlen einer Ovariencyste wohl sicher erwiesen ist. Die erste Beobachtung rührt von Gönner[1]) her, welcher ein Mukoïd in der Ascitesflüssigkeit eines Mannes mit Carcinoma hepatis fand; der zweite Fall, welcher von Pfannenstiel[2]) beobachtet wurde, betraf eine kachektische 30jährige Frau, deren Ascites wahrscheinlich ein Carcinom des Darmes zu Grunde lag.

Ausser diesen, von Gönner und Pfannenstiel beobachteten Fällen habe ich in der Literatur keine weiteren Fälle gefunden, in welchen, bei nicht gleichzeitigem Vorhandensein eines geborstenen pseudomucinhaltigen Kystomes, eine Mukoïdsubstanz in einer Bauchflüssigkeit sicher beobachtet worden ist. Da ich nun in den letzten zwei Jahren 6 solche Fälle beobachtet habe, von denen 4 etwas genauer untersucht werden konnten, dürfte die folgende Mittheilung vielleicht nicht ganz ohne Interesse sein.

Der Fall No. 1 betraf einen 66jährigen Mann, B. (Arbeiter), welcher seit dem 16. März 1889 in dem hiesigen Krankenhause unter der Diagnose *Cirrhosis hepatis (luetica?)* behandelt wurde. Seit der Jugend her ist er dem übermässigen Gebrauche von Alkohol anheimgefallen gewesen und er hat auch einmal einen Chanker gehabt. Während des Aufenthaltes des Patienten im Krankenhause wurde die Punction mehrmals vorgenommen, besonders im Herbste 1889, und dabei, bisweilen mit einer Zwischenzeit von nur einer Woche, reichliche Mengen Flüssigkeit, 8—11 Liter, entleert. Im Anfange dieses Jahres (1890) wurde dagegen die Punction mehr selten vorgenommen; der Zustand des Patienten besserte sich immer mehr, und im März konnte er, wesentlich verbessert, das Krankenhaus verlassen. Ueber seinen Zustand nach dieser Zeit habe ich nichts Sicheres erfahren können.

Das erste Mal, wo ich von diesem Patienten Flüssigkeit zur Untersuchung erhielt, war im Mai 1889. Die Menge der Flüssigkeit war diesmal sehr klein, ein paar hundert Cubikcentimeter, aber jedenfalls völlig genügend zum Nachweis einer

---

[1]) Zeitschrift f. Geburtshülfe und Gynäkologie, Bd. 10, S. 103 u. ff.

[2]) Separatabzug aus dem Archiv für Gynäkologie, Bd. XXXVIII, Heft 3, 1890.

mukoïden Substanz in derselben. In den Wintermonaten, October—Februar 1889/1890, erhielt ich jedoch einige Male weit grössere Flüssigkeitsmengen, 8—10 Liter, wodurch eine ausführlichere Untersuchung möglich wurde.

Die Flüssigkeit, welche bei den verschiedenen Gelegenheiten, wo sie untersucht wurde, immer dasselbe Aussehen hatte, war blassgelb mit einem schwachen Stich in's Grünliche. Sie war stets eigenthümlich opalisirend, etwa wie eine verdünnte Glykogenlösung, und wegen dieses Verhaltens wurde sie besonders auf Glykogen untersucht. Es gelang mir aber keine Spur sei es von Glykogen oder irgend einem anderen, mit diastatischen Enzymen zu verzuckernden Kohlehydrate nachzuweisen. Bei einigen Gelegenheiten lieferte die Flüssigkeit durch sogenannte spontane Gerinnung eine kleine Menge Fibrin; aber selbst nachdem sie durch wiederholte Gerinnungen vollkommen gerinnungsunfähig geworden war, zeigte sie nach dem Filtriren dieselbe eigenthümliche Opalescenz wie vorher. Bei Zusatz von Essigsäure, gleichgültig ob sie in sehr geringer oder in grösserer Menge zugesetzt wurde, trat kein Niederschlag auf. Mucin oder irgend ein durch Essigsäure direct fällbares Mukoïd konnte also nicht nachgewiesen werden. Bei der Dialyse trübte sich die Flüssigkeit durch ausgeschiedenes Globulin; aber die dialysirte und filtrirte Flüssigkeit wurde von Essigsäure ebenso wenig wie die ursprüngliche, nicht dialysirte Flüssigkeit gefällt, ein Verhalten, auf welches ich aus später leicht ersichtlichen Gründen schon hier die Aufmerksamkeit lenke. Bei Anstellung der Trommer'schen Probe gab die Flüssigkeit, bei Zusatz einer genügenden Menge Kupfersalzlösung, einen sehr deutlichen Ausschlag mit ziemlich reichlicher Ausscheidung von Kupferoxydul. Das sp. Gewicht schwankte bei verschiedenen Gelegenheiten zwischen 1,0102 und 1,0133. Die Reaction war schwach alkalisch und der Gehalt an festen Stoffen in 2 untersuchten Fällen bezw. 2,932 und 3,153 %.

Nachdem die Untersuchung einer kleineren Flüssigkeitsmenge die Gegenwart einer Proteïnsubstanz erwiesen hatte, welche wie das Mucin oder die Mukoïde beim Sieden mit

einer Säure einen reducirenden Stoff lieferte, und nachdem ich durch einige präliminare Versuche den besten Weg zur Untersuchung der Flüssigkeit zu ermitteln versucht hatte, verfuhr ich zur Isolirung der Mukoïdsubstanz auf folgende Weise.

Die Flüssigkeit wurde durch Aufkochen unter vorsichtigem Essigsäurezusatz möglichst vollständig von Eiweiss befreit. Das sehr genau neutralisirte Filtrat wurde im Wasserbade concentrirt, von ein wenig dabei ausgeschiedenem Eiweiss durch Filtration getrennt und so lange mit Alkohol versetzt, bis kein Niederschlag mehr entstand. Die so erhaltene Fällung, welche eine reichliche Menge Kochsalz enthielt, wurde abfiltrirt, ausgepresst und in Wasser wieder gelöst. Die filtrirte Lösung wurde zum zweiten Male mit Alkohol gefällt; der Niederschlag wurde mit Alkohol fein zerrieben und mit Alkohol gewaschen. Der Niederschlag, welcher auch diesmal reich an Kochsalz war, wurde in Wasser gelöst, die Lösung concentrirt und der Dialyse unterworfen, bis in dem Diffusate kein Chlor mehr nachzuweisen war. Die dialysirte Flüssigkeit, welche auch nach der Filtration opalisirend war, gab bei Zusatz von Essigsäure einen weissen, flockigen, in überschüssiger Essigsäure sehr schwer löslichen Niederschlag. Dieser Niederschlag wurde erst durch Auswaschen mit Wasser, dann durch abwechselndes Auflösen in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali und Ausfällen mit Essigsäure und endlich durch neues Auswaschen gereinigt. Der ausgefällte Stoff verhielt sich also zu Essigsäure wie gewisse Mukoïde, und da er bei weiterer Untersuchung wie auch bei der Elementaranalyse als eine der Mucingruppe angehörige Substanz sich erwies, so habe ich ihn einfach als *Mukoïd* bezeichnet. Behufs der Elementaranalyse wurde dieses Mukoïd mit Alkohol und Aether behandelt.

Das von dem mit Essigsäure ausgefällten Mukoïde getrennte Filtrat wurde theils durch Zusatz von mehr Essigsäure, theils durch partielle Neutralisation mit Alkali auf rückständiges Mukoïd geprüft und ein etwa zurückgebliebener, ausfallender Rest desselben abfiltrirt. Wenn das Filtrat bei

beiden Prüfungsweisen klar blieb, wurde es genau neutralisirt, ziemlich stark concentrirt und mit überschüssigem Alkohol gefällt. Es schied sich hierbei stets in reichlicher Menge ein weisser Niederschlag aus, welcher auf einem Filtrum gesammelt, mit Alkohol gewaschen, ausgepresst und in ziemlich wenig Wasser gelöst wurde. Diese Lösung wurde gegen Wasser dialysirt und dann wiederum mit Essigsäure geprüft, wobei in den meisten Fällen ein neuer, wenn auch geringfügiger, Niederschlag von Mukoïd entstand. Das neue Filtrat wurde wie oben behandelt und in dieser Weise wiederholt verfahren, bis keine Ausscheidung von Mukoïd mehr zu erhalten war. Die zuletzt erhaltene, dialysirte, bei Essigsäurezusatz nicht mehr sich trübende Flüssigkeit wurde mit überschüssigem Alkohol gefällt und der Niederschlag durch abwechselndes Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol gereinigt. Die Substanz zeigte hierbei dasselbe Verhalten, wie einige von mir aus Mucin künstlich dargestellte Mucinalbumosen, gewisse Kohlehydrate und Proteïnsubstanzen, dass nämlich ihre Lösung in Wasser nicht von Alkohol allein, sondern erst von Alkohol nach Zusatz von ein wenig Neutralsalz gefällt wurde[1]). Diese zweite, nicht durch Essigsäure, wohl aber durch Alkohol fällbare Substanz zeigte sich auch bei der näheren Untersuchung als eine der Mucingruppe angehörige Substanz. Da sie eine grosse Uebereinstimmung mit solcher Albumose zeigte, welche ich aus echtem Mucin durch Alkalieinwirkung dargestellt habe, nenne ich diese Substanz — was ich später weiter motiviren werde — der Kürze halber *Mucinalbumose.*

Ich muss übrigens zufügen, dass in demjenigen alkoholischen Filtrate, welches nach der ersten Fällung der von Eiweiss befreiten, filtrirten und concentrirten Ascitesflüssigkeit mit überschüssigem Alkohol erhalten wurde, auch andere Mucinalbumose- und Mucinpeptonsubstanzen sich vorfanden,

---

[1]) Man hat wiederholt ganz irrthümlich ein solches Verhalten als ein Kriterium der Reinheit verschiedener Substanzen, wie z. B. des sogenannten thierischen Gummis u. a., bezeichnet.

welche während der ziemlich langdauernden Verdunstung der recht grossen Flüssigkeitsmengen vielleicht aus der obengenannten Mucinalbumose entstanden waren. Auch derartige, in Alkohol weniger schwer lösliche Mucinalbumosen oder Mucinpeptone habe ich aus dem echten Mucin durch Alkalieinwirkung erhalten; da ich aber bisher keine Substanzen von constanter Zusammensetzung, sondern anscheinend nur ein Gemenge von mehreren Stoffen in den Händen gehabt habe, will ich hier nicht ausführlicher über sie berichten[1]). Ich bemerke hier nur, dass diese Stoffe immer stickstoffärmere Zwischenstufen zwischen den mehr typischen Mucinalbumosen und den letzten Spaltungsproducten derselben darstellen. Ich glaube nun, dass die in Alkohol löslicheren Mucinpeptone der untersuchten Ascitesflüssigkeit vielleicht nichts Anderes als aus der Mucinalbumose während des Siedens und der Verdunstung entstandene Umwandlungsproducte darstellen, und aus diesem Grunde habe ich sie nicht näher untersucht.

Aus der fraglichen Ascitesflüssigkeit habe ich also nur zwei Substanzen von mehr constanter Zusammensetzung, wie auch von constanten Reactionen, isoliren können, und diese Substanzen sind ein durch Essigsäure fällbares ***Mukoïd*** und eine ***Mucinalbumose.***

Ich gehe zuerst zu der Besprechung des Mukoïdes über.

Das ***Mukoïd*** stellt in trocknem Zustande ein feines grauweisses Pulver dar, welches in Wasser nicht löslich ist. Nach Zusatz von einer minimalen Menge Alkali kann es jedoch in Wasser zu einer neutral oder sogar sehr schwach sauer reagirenden Flüssigheit gelöst werden. Beim Sieden wird eine solche Lösung weder trübe noch opalisirend.

---

[1]) Diese meine Untersuchungen sind noch weder veröffentlicht, noch abgeschlossen worden; und da ich aus dem Submaxillarismucin bisher weder ein reines, stickstofffreies Kohlehydrat (thierisches Gummi), noch (mit ein paar Ausnahmen) überhaupt analysirbare Producte erhalten habe, werde ich wahrscheinlich nicht in der nächsten Zeit in der Lage sein, die versprochene Fortsetzung meiner Mucinuntersuchungen veröffentlichen zu können.

Bei Ausführung der Heller'schen Eiweissprobe tritt zwar an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten ein weisslicher Ring auf, aber er verschwindet wieder gänzlich beim Umrühren. Beim Erwärmen dieser salpetersäurehaltigen Flüssigkeit tritt die Xanthoproteïnsäurereaction schön auf.

Von Essigsäure wird die Mukoïdlösung gefällt und der Niederschlag wird erst von ziemlich viel überschüssiger Säure gelöst. In einer Mukoïdlösung von 1 % wurde der Niederschlag erst dann zu einer opalisirenden Flüssigkeit wieder gelöst, wenn das Gemenge etwa 2,3 % Essigsäure enthielt. Die so gewonnene essigsaure Mukoïdlösung gab mit einer Spur Ferrocyankaliumlösung eine Trübung, welche jedoch nach Zusatz von ein wenig mehr der Reagenslösung wieder vollständig verschwand.

Nach Zusatz von Natriumacetat konnte die Lösung mit Essigsäure angesäuert werden, ohne dass dabei eine Trübung oder irgend ein Niederschlag entstand. Eine solche essigsaure Lösung wurde von Gerbsäure grobflockig gefällt.

Mit sehr wenig Salzsäure gab die Lösung einen Niederschlag, welcher jedoch schon von dem geringsten Säureüberschusse wieder gelöst wurde. Zu Ferrocyankalium verhielt sich diese Lösung wie die Lösung in überschüssiger Essigsäure.

Metallsalzen gegenüber verhielt sich die Mukoïdlösung in folgender Weise: Quecksilberchlorid erzeugte weder allein noch mit Salzsäure einen Niederschlag. Quecksilberjodidjodkalium gab nicht allein, sondern erst nach Säurezusatz eine Fällung. Kupfersulfat rief, wenn es in sehr kleiner Menge zugesetzt wurde, nur eine Opalisirung hervor; in etwas grösserer Menge zugesetzt, übte es gar keine Wirkung aus. Eisenchlorid, in sehr geringer Menge zugesetzt, erzeugte einen grobflockigen Niederschlag, welcher selbst von einem grossen Ueberschuss des Reagenses nicht wieder gelöst wurde. Setzte ich auf einmal eine etwas grössere Menge der Eisenchloridlösung zu, so blieb die Fällung aus und konnte durch weitere Zusätze der Reagenslösung nicht hervorgerufen werden. Bleizucker, in sehr kleiner Menge zugesetzt, gab einen reichlichen, bei Zusatz von mehr Reagenslösung sich

wieder lösenden Niederschlag. Wurde auf einmal etwas mehr Bleizuckerlösung zugesetzt, so blieb die Lösung klar.

Die Farbenreactionen der Proteinstoffe mit den Millon-schen und Adamkiewicz'schen Reagensen, wie auch die Xanthoproteïnsäureprobe fielen positiv aus. Mit Kupfersulfat und Alkali wurde eine schöne Biuretreaction erhalten. Die alkalische, kupferoxydhaltige Lösung wurde beim Sieden gar nicht reducirt. Wurde die Mukoïdlösung nach Zusatz von 2 % Salzsäure eine halbe Stunde im Wasserbade erwärmt, so gab sie dagegen nunmehr eine sehr schöne Reaction mit der Trommer'schen Probe.

Diejenige Mukoïdlösung, auf welche die nun beschriebenen Proben sich beziehen, enthielt 1,10 % Mukoïd.

Die Elementaranalyse ergab für das Mukoïd die folgende Zusammensetzung:

C	51,40 %,
H	6,80 %,
N	13,01 %.

Die Substanz erwies sich bei der qualitativen Untersuchung als schwefelhaltig und sie enthielt, wie die Prüfung mit Bleiacetat und siedender Alkalilauge zeigte, auch sogenannten bleischwärzenden Schwefel. Wegen Mangels an Material konnte der Gehalt an Schwefel nicht festgestellt werden.

Die *Mucinalbumose* wurde in trocknem Zustande als ein sehr feines, rein weisses Pulver erhalten. Sie löst sich äusserst leicht in Wasser zu einer ganz klaren Flüssigkeit, welche beim Sieden in keiner Weise sichtbar verändert wird.

Essigsäure oder Salzsäure erzeugen in dieser Lösung keine Spur einer Fällung oder Trübung. Ebenso wird die angesäuerte Lösung durch Zusatz von Ferrocyankaliumlösung nicht im Geringsten verändert.

Die Heller'sche Probe giebt an der Berührungsstelle der zwei Flüssigkeiten keine Spur einer Trübung oder eines Ringes. Dagegen tritt bei Zimmertemperatur die Xanthoproteïnsäurereaction ziemlich rasch auf.

Gerbsäure verändert die neutrale Lösung nicht. In der mit Essigsäure angesäuerten Lösung entsteht jedoch nach Zusatz von ziemlich viel Gerbsäure eine flockige Fällung.

Zu den Metallsalzen verhielt sich die Lösung wie folgt: Quecksilberchlorid gab weder allein noch mit Salzsäure einen Niederschlag. Quecksilberjodidjodkalium allein gab keinen Niederschlag. In der mit Salzsäure versetzten Flüssigkeit konnte mit dem Reagense höchstens eine Opalisirung hervorgerufen werden. Kupfersulfat erzeugte unter keinen Umständen eine Trübung oder Fällung. Eisenchlorid dagegen gab bei sehr vorsichtigem Zusatz einen reichlichen, flockigen Niederschlag. Bleizuckerlösung rief unter keinen Umständen eine Fällung hervor. Bleiessig, in sehr kleiner Menge zugesetzt, erzeugte eine reichliche, flockige Fällung; wurde auf einmal etwas mehr von dem Reagense zugesetzt, so blieb die Flüssigkeit dagegen klar.

Die Xanthoproteïnsäure- und die Biuretprobe, wie auch die Farbenreactionen mit den Reagentien von Millon und Adamkiewicz fielen positiv aus. Beim Sieden mit Kupfersulfat und Alkali (Trommer'sche Probe) schied sich kein Kupferoxydul aus; und selbst bei weiterer Prüfung der Flüssigkeit nach der Babo-Meissner'schen Methode mit Salzsäure und Kaliumferricyanid konnte keine Spur von Oxydul nachgewiesen werden. Nach dem Erwärmen der Mucinalbumoselösung mit 2 % Chlorwasserstoffsäure im Wasserbade eine halbe Stunde gab die Flüssigkeit dagegen eine schöne Trommer'sche Reaction mit reichlicher Ausscheidung von Kupferoxydul.

Beim Sättigen der Lösung der Mucinalbumose in Wasser mit fein gepulvertem Chlornatrium entstand kein Niederschlag, und ebenso wenig wurde diese Lösung durch Zusatz von salzgesättigter Essigsäure getrübt. Von Ammoniumsulfat in Substanz, bis zur Sättigung eingetragen, wurde die Lösung dagegen gefällt.

Die zu den nun angeführten Proben verwandte Lösung enthielt 1,3 % Mucinalbumose.

Die Elementaranalyse ergab für die Substanz folgende elementäre Zusammensetzung:

C 49,79 %,
H 6,96 %,
N 11,42 %.

Die Zahl 11,42 % N ist das Mittel aus den Analysen zweier, aus verschiedenen Darstellungen stammender Präparate, von welchen das eine 11,53 und das andere 11,31 % Stickstoff enthielt. Die Schwefelbestimmung verunglückte, und das rückständige Material gestattete keine neue genaue Bestimmung. Die Substanz war indessen schwefelhaltig und enthielt sogenannten bleischwärzenden Schwefel.

Durch die hier angeführte Zusammensetzung, wie auch durch die Eigenschaft, beim Sieden mit verdünnter Mineralsäure eine reducirende Substanz zu geben, erweist sich der fragliche Stoff, wie das oben beschriebene Mukoïd, als eine der Mucingruppe angehörige Substanz. Bezüglich ihrer qualitativen Reactionen, wie auch ihrer Löslichkeits- und Fällbarkeitsverhältnisse ähnelt diese Substanz den Albumosen oder Peptonen, und man könnte vielleicht darüber im Zweifel sein, ob sie als Mucinalbumose oder Mucinpepton aufzufassen sei. Zu den Peptonen im modernen Sinne dürfte sie jedoch, wie aus dem Obigen ersichtlich ist, nicht zu rechnen sein, insoferne als nämlich als echte Peptone durch Ammoniumsulfat nicht fällbare Stoffe bezeichnet werden. Ebenso wenig gehört sie den sogenannten primären Albumosen an, denn sie wird von NaCl, bis zur Sättigung eingetragen, nicht einmal bei saurer Reaction gefällt. Geht man von der modernen Nomenclatur der Albumosen und Peptone aus, so dürfte sie wohl am ehesten als eine secundäre Mucinalbumose aufgefasst werden. Es liegt nun allerdings kein besonderes Gewicht auf dem Namen; da aber ein solcher der Kürze und Bequemlichkeit halber wohl kaum zu entbehren ist, habe ich die Substanz ganz einfach als Mucinalbumose bezeichnet.

Bezüglich des relativen Mengenverhältnisses, in welchem die zwei obengenannten Stoffe, das Mukoïd und die Mucinalbumose, aus der fraglichen Ascitesflüssigkeit dargestellt

werden konnten, habe ich stets gefunden, dass die Mucinalbumose, dem Mukoïde gegenüber, bedeutend vorherrschend war.

Eine andere Frage, die ich wenigstens beiläufig berühren muss, ist die, ob die zwei isolirten Mukoïdsubstanzen ursprünglich als solche in der Ascitesflüssigkeit präformirt enthalten oder vielleicht als Spaltungsproducte aus irgend einer anderen Substanz in Folge der chemischen Proceduren entstanden seien. Diese Frage kann ich nicht in exacter Weise beantworten, ich finde es aber sehr wahrscheinlich, dass die fraglichen Stoffe als Spaltungsproducte aus irgend einer anderen, mehr complicirten Proteïnsubstanz hervorgegangen sind. In der ursprünglichen Ascitesflüssigkeit habe ich nie, selbst dann nicht, wenn sie durch Dialyse vollständig von Salzen befreit worden war, mit Essigsäure das oben beschriebene Mukoïd — sei es auch nur in Spuren — nachweisen können, wogegen ein solcher Nachweis in der auf obige Weise behandelten Flüssigkeit stets ohne Schwierigkeit gelang. Da ich nun bei anderen Untersuchungen über Mukoïdsubstanzen mehrmals gesehen habe, wie leicht diese einer Zersetzung anheimfallen, und da ich auch Fälle beobachtet habe, wo eine durch Essigsäure direct nicht fällbare Mukoïdsubstanz (aus Cysten des Ovariums) durch das Sieden der Lösung derart verändert wurde, dass die Lösung nunmehr mit Essigsäure einen deutlichen Niederschlag gab, so kann ich nicht die Möglichkeit ausschliessen, dass bei dem chemischen Verarbeiten der in Rede stehenden Ascitesflüssigkeit auch ähnliche Verhältnisse sich geltend gemacht haben.

Die sichere Entscheidung dieser Frage ist mir trotz Verschwendung von viel Zeit und Material nicht gelungen, und meine Bemühungen, eine solche Muttersubstanz zu isoliren, haben bis jetzt zu keinen zuverlässigen Resultaten geführt. Vom praktischen Gesichtspunkte aus dürfte die Entscheidung dieser Frage auch, wenigstens gegenwärtig, von nur untergeordneter Bedeutung sein. Wenn nämlich das Vorkommen von Mukoïdsubstanzen in Ascitesflüssigkeiten überhaupt von irgend welcher praktischen Bedeutung sein möchte, so dürfte

wohl die wichtigste Aufgabe für die nächste Zeit die sein, durch eine zuverlässige und sichere Methode die An- bezw. Abwesenheit solcher Substanzen unter verschiedenen Verhältnissen zu zeigen. Ob die gefundenen Substanzen als solche in der Flüssigkeit präformirt enthalten sind, oder ob sie aus einer mehr complicirten Muttersubstanz entstehen, dürfte dabei in praktischer Hinsicht wohl weniger wichtig sein.

In dem Vorigen habe ich die Aufmerksamkeit auf den Umstand gelenkt, dass die untersuchte Ascitesflüssigkeit direct bei der Ausführung der Trommer'schen Probe eine schöne positive Reaction auf Zucker oder irgend eine andere reducirende Substanz gab.

Behufs der Isolirung und näheren Untersuchung dieser, in der Flüssigkeit vorkommenden reducirenden Substanz verfuhr ich in folgender Weise: Das von dem ausgefällten Gemenge des Mukoïds und der Mucinalbumose getrennte alkoholische Filtrat wurde durch Verdunsten bei verhältnissmässig niedriger Temperatur von dem Alkohol befreit und zum Syrup concentrirt. Dieser letztere wurde mit absolutem Alkohol behandelt, wobei ein reichlicher, ungelöster, aus mucinpeptonähnlichen Substanzen und Kochsalz bestehender Rest zurückblieb. Die abfiltrirte alkoholische Lösung wurde wieder zum Syrup verdunstet. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und mit Gerbsäure, zur Ausfällung der vom Alkohol gelösten Peptonsubstanzen, versetzt. Nach vollständiger Ausfällung mit Gerbsäure wurde der Ueberschuss dieser letzteren aus dem Filtrate zum grössten Theile mit Barytwasser ausgefällt. Der Rest wurde durch Zusatz von neutralem Bleiacetat zu dem neutralisirten Filtrate entfernt. Das neue Filtrat wurde mit ein wenig Bleiessig gefällt, dann wieder filtrirt, mit Schwefelwasserstoff entbleit und nach neuer Filtration der Schwefelwasserstoff mit einem Luftstrome entfernt. Das zuletzt erhaltene Filtrat enthielt noch etwas Baryt. Es wurde deshalb mit Schwefelsäure in geringem Ueberschuss versetzt, das neue Filtrat mit Kalilauge genau neutralisirt, bei etwa 50° C. concentrirt und durch Zusatz von überschüssigem Alkohol von dem Alkalisulfate befreit.

Nach der Filtration wurde nach Zusatz von etwas Wasser der Alkohol bei 40—50° C. ausgetrieben und die rückständige Flüssigkeit zu der weiteren Untersuchung verwendet.

Diese Flüssigkeit gab eine starke und schöne Reaction mit den gewöhnlichen Zuckerproben (Reductionsproben); sie enthielt eine gährungsfähige Substanz und bei der Phenylhydrazinprobe gab sie einen reichlichen, gelben, aus feinen Nadeln bestehenden Niederschlag, welcher wie das Phenylglykosazon sich verhielt. Der umkrystallisirte trockene Niederschlag fing bei 203° C. an zu schmelzen. Ich kann wohl also kaum bezweifeln, dass die Bauchflüssigkeit Glykose enthielt, trotzdem die zuletzt erhaltene Lösung bei der Untersuchung mit dem Polariskope nicht als rechtsdrehend, sondern als optisch unwirksam sich erwies. Das optische Verhalten schliesst nämlich nicht die Gegenwart von Glykose aus; denn trotz dem umständlichen Reinigungsverfahren gelang es mir nicht, sämmtliche Mucinpeptonsubstanzen aus der Flüssigkeit zu entfernen. Ein Theil dieser Substanzen wird nämlich von Gerbsäure nicht gefällt. Durch Bleiessig und Ammoniak konnten sie zwar gefällt werden; dabei wurde aber auch die reducirende Substanz gefällt. Diese nicht ausgefällten Peptonsubstanzen könnten nun vielleicht der rechtsdrehenden Wirkung des etwa vorhandenen Traubenzuckers entgegengewirkt haben.

Die Reductionsfähigkeit der obigen Flüssigkeit rührte übrigens nicht von Glykose oder irgend einer gährungsfähigen Substanz allein her. Nachdem die Flüssigkeit vollständig vergährt hatte, enthielt sie nämlich fortwährend eine reducirende Substanz und gab noch eine schöne T r o m m e r'sche Reaction. Die Natur dieser zweiten, reducirenden Substanz kann ich nicht näher angeben. Bei der Zersetzung des Mucins mit Alkali habe ich regelmässig stickstoffhaltige, sauer reagirende Substanzen erhalten, welche in Alkohol nicht ganz unlöslich sind und welche stark reduciren. Bei Ausführung der T r o m m e r'schen Probe geben sie nämlich direct — ohne vorheriges Sieden mit einer Säure — eine schöne Reaction mit Ausscheidung von Kupferoxydul. Diese Substanzen können

ebenfalls nicht vollständig mit Gerbsäure ausgefällt werden, und ich halte es also nicht für unwahrscheinlich, dass die zweite, reducirende, aber gährungsunfähige Substanz ein durch das Kochen und die wiederholten Verdunstungen entstandenes Umwandlungsproduct der Mucinalbumose gewesen sei. Eine andere Möglichkeit ist freilich die, dass es sich hier um die von Worm-Müller und Otto im Blute neben dem Zucker nachgewiesene reducirende, aber gährungsunfähige Substanz gehandelt habe.

Da die jetzt besprochene Ascitesflüssigkeit die erste von mir untersuchte Bauchflüssigkeit war, in welcher mukoïde Substanzen vorkamen, und da sie also von den gewöhnlichen Bauchflüssigkeiten (wie diese nach den bisher gang und gäben Ansichten beschaffen sind) ein wesentlich abweichendes Verhalten zeigte, so fand ich es nothwendig, auch die übrigen in ihr vorkommenden Proteïnsubstanzen des Näheren zu untersuchen. Diese Untersuchung zeigte indessen nichts Bemerkenswerthes. Abgesehen von einer kleinen Fibrinmenge, fand ich nur Globulin und Albumin, welche Stoffe, so weit ich finden konnte, in keiner Hinsicht von den entsprechenden Eiweisskörpern des Blutserums oder der Transsudate bei Menschen ein abweichendes Verhalten zeigten. Andere Proteïnsubstanzen als die nun genannten habe ich in dieser Ascitesflüssigkeit nicht beobachten können.

Die quantitative Analyse dieser Flüssigkeit war mit einigen Schwierigkeiten verbunden; und da es hier zum Theil um nur wenig studirte Substanzen sich handelte, konnte die Analyse nicht mit erwünschter Exactheit ausgeführt werden. Von besonderem Interesse war es natürlich, die Menge der Mukoïdsubstanzen zu bestimmen; aber gerade diese Bestimmung lässt sich kaum in exacter Weise ausführen. Beim Erhitzen der Flüssigkeit zum Sieden behufs Entfernung des Eiweisses bleibt nämlich stets eine Spur des letzteren in der Flüssigkeit gelöst, und diese Spur wird aus dem concentrirten Filtrate durch den zugesetzten Alkohol ausgefällt, wodurch das Gewicht der Mukoïdsubstanzen etwas erhöht wird. Andererseits kann auch die Mucinalbumose bei der Ver-

dunstung der Flüssigkeit vielleicht zum Theil in peptonähnliche Substanzen übergehen, welche von dem Alkohol nicht gefällt werden, was umgekehrt zu einem Verluste an Mukoïdsubstanz führen kann. Hierzu kommt ausserdem noch die Schwierigkeit, dass bei der Ausfällung der Mukoïdsubstanzen mit Alkohol gleichzeitig eine nicht unbedeutende Menge Mineralsubstanzen mit ausgefällt wird, wodurch eine besondere Aschenbestimmung nothwendig wird. Trotz dieser Schwierigkeiten glaubte ich indessen wenigstens die ungefähre Menge der Mukoïdsubstanzen durch die Analyse ermitteln zu können, weil nämlich die erstgenannten zwei Fehler einander gewissermassen compensiren dürften. Ich bestimmte also die Menge der Mukoïdsubstanzen in der Weise, dass ich das Eiweiss durch Erhitzen zum Sieden unter Essigsäurezusatz entfernte, das Filtrat einschliesslich des zum Auswaschen der Gerinnsel verwendeten Wassers genau neutralisirte, bei gelinder Wärme concentrirte, eine dabei auftretende Fällung durch Filtration entfernte und das Filtrat mit überschüssigem Alkohol fällte. Der Niederschlag wurde mit Alkohol gewaschen, mit Aether erschöpft, getrocknet und gewogen. Dann wurde eingeäschert und die Asche gewogen.

Der Gehalt an Eiweiss wurde als Differenz zwischen der gefundenen Menge der Mukoïdkörper und der Gesammtmenge Proteïnsubstanz berechnet. Die gesammte Proteïnmenge wurde wiederum in der allgemein üblichen Weise durch Fällung der genau neutralisirten Flüssigkeit mit Alkohol bestimmt.

Die Globulinmenge wurde nach meiner Methode durch Ausfällung mit Magnesiumsulfat bestimmt. Ich finde es jedoch sehr wahrscheinlich, dass der hierbei erhaltene Globulinniederschlag auch das eigentliche Mukoïd — wenn dieses in der Flüssigkeit präformirt enthalten war — oder eine Muttersubstanz der mukoïden Stoffe enthalten habe, denn es ist jedenfalls sicher, dass der aus einer grösseren Menge derselben Ascitesflüssigkeit durch Magnesiumsulfat erhaltene Globulinniederschlag einen Stoff enthielt, welcher beim Sieden mit einer Säure eine reducirende Substanz gab.

Zur Bestimmung der in der Flüssigkeit enthaltenen direct reducirenden Substanz neutralisirte ich eine genau abgewogene Menge der Flüssigkeit sehr genau, setzte dann eine sehr grosse Alkoholmenge zu, filtrirte den Niederschlag ab, wusch ihn mit Alkohol genau aus, concentrirte die vereinigten alkoholischen Filtrate stark bei niedriger Temperatur (40—50° C.), behandelte den Rückstand mit Alkohol, filtrirte von dem geringfügigen ungelösten Rückstande ab, vermischte das alkoholische Filtrat mit etwas Wasser, verdunstete den Alkohol bei niedriger Temperatur, brachte die Flüssigkeit durch Wasserzusatz auf ein bestimmtes Volumen und verwendete sie dann zur Titration mit Fehling's Flüssigkeit. Aus der Grösse der Reduction wurde dann die Menge der reducirenden Substanz als Glykose berechnet. Ich habe solche Bestimmungen bei zwei verschiedenen Gelegenheiten ausgeführt. Die Menge der reducirenden Substanz, als Glykose berechnet, war dabei 0,043 bezw. 0,056 %.

Eine vollständigere Analyse der Flüssigkeit wurde nur einmal, nämlich im Herbste 1889, ausgeführt. Das sp. Gewicht war diesmal 1,0125. Die alkalische Reaction entsprach 0,159 % Na_2CO_3.

Die Zusammensetzung der Flüssigkeit war folgende:

Wasser	96,8470 %,
Feste Stoffe	3,1530 %,
Eiweiss	1,9170 %,
Davon:	
Globulin	0,6120 %,
Albumin	1,3050 %,
Mukoïdsubstanzen	0,1180 %,
Salze	0,8667 %,
Davon:	
Lösliche Salze	0,8305 %,
Unlösliche Salze	0,0362 %,
Extractivstoffe	0,2513 %,
Reducirende Substanz (als Glykose berechnet)	0,0430 %.

Der Fall No. 2 betraf einen 30jährigen Mann, P. (Arbeiter), welcher in einem Krankenhause in Stockholm unter der Diagnose: *Cirrhosis hepatis (syphilitica)* vom Januar bis zum October 1889 be-

handelt wurde. An diesem Patienten wurde im Laufe von etwa 10 Monaten die Punction 35 mal vorgenommen und jedesmal wurden etwa 11 Liter Flüssigkeit entleert. Der Patient starb im October 1889 und die klinische Diagnose wurde durch die Section bestätigt.

Von diesem Patienten erhielt ich durch die Güte des Herrn Grafen C. Th. Mörner einmal eine zu der Untersuchung genügende Flüssigkeitsmenge, und zwar im Anfange von October oder kurz vor dem Tode des Patienten. Die Flüssigkeit war blassgelb und hatte dieselbe eigenthümliche Opalescenz wie in dem vorigen Falle. Diese Opalescenz verschwand ebenso wenig nach der Filtration wie nach der spontanen Gerinnung. Auch diese Flüssigkeit gerann nämlich spontan, lieferte aber nur äusserst wenig Fibrin. Die Reaction war schwach alkalisch, entsprechend etwa 0,1219% Na_2CO_3. Bei Prüfung mit der Trommer'schen Probe gab diese Flüssigkeit, wie die vorige, direct eine recht starke Reaction mit Ausscheidung von Kupferoxydul. Glykogen konnte nicht nachgewiesen werden.

Bezüglich der chemischen Verarbeitung dieser Flüssigkeit kann ich in allem Wesentlichen auf das von der vorigen Gesagte hinweisen. Auch aus dieser Flüssigkeit konnte ich nach dem dort beschriebenen Verfahren sowohl ein durch Essigsäure fällbares Mukoïd wie auch Mucinalbumose isoliren. Jenes kam auch in dieser Flüssigkeit in unverhältnissmässig weit geringerer Menge als diese vor. Das von dem ersten Mukoïd- und Albumoseniederschlage getrennte alkoholische Filtrat enthielt auch in diesem Falle mucinpeptonähnliche Substanzen, und ebenso enthielt die Flüssigkeit theils eine nicht gährungsfähige, reducirende Subtanz und theils eine andere, ebenfalls reducirende, aber gährungsfähige Substanz, welche bei der Phenylhydrazinprobe Krystalle von dem Aussehen des Phenylglykosazons gab und welche also wahrscheinlich Glykose war.

Das mit Essigsäure fällbare Mukoïd, wie auch die Mucinalbumose verhielten sich qualitativ ganz wie die entsprechenden Substanzen aus der vorigen Flüssigkeit. Die Elementaranalyse gab folgende Zahlen:

Das *Mukoïd* enthielt:

13,10 % N.

Die *Mucinalbumose* enthielt:

C	49,87 %,
H	6,88 %,
N	11,40 %.

Beide Substanzen enthielten Schwefel, deren Menge indessen wegen der unzureichenden Menge des Materiales nicht bestimmt werden konnte. Beim Sieden mit Kupfersulfat und Alkali direct fand gar keine Reduction statt, wogegen beide Substanzen, besonders aber die Mucinalbumose, nach dem Sieden mit verdünnter Mineralsäure stark reducirend wirkten und eine reichliche Ausscheidung von Kupferoxydul erzeugten. Durch dieses Verhalten, wie auch durch die elementäre Zusammensetzung zeigen diese Substanzen ihre Angehörigkeit an der Mucingruppe. Sowohl bezüglich der qualitativen Reactionen, wie der elementären Zusammensetzung scheinen sie wohl auch mit den entsprechenden, aus der vorigen Flüssigkeit isolirten Stoffen identisch zu sein.

Wie die vorige, bot auch diese Flüssigkeit bezüglich der Natur der in ihr enthaltenen übrigen Proteïnstoffe nichts Abweichendes dar. Die quantitative Analyse, welche in derselben Weise wie in dem vorigen Falle ausgeführt wurde, ergab für diese Flüssigkeit folgende Zusammensetzung:

Sp. Gew.	1,0092,
Wasser	97,654 %,
Feste Stoffe	2,346 %,
Eiweiss	1.109 %,
Davon:	
Globulin	0,314 %,
Albumin	0,795 %,
Mukoïdsubstanzen	0,101 %,
Salze	0,825 %,
Extractivstoffe	0,311 %,
Reducirende Substanz (als Glykose berechnet)	0,0768 %.

Der Fall No. 3 betraf ebenfalls einen Mann, einen 49jährigen Bauernknecht A., welcher vom 20. Juni 1890 bis zum 22. Juli desselben Jahres in demselben Krankenhause in Stockholm wie der vorige Patient

behandelt wurde. Die Diagnose war: *Cancer ventriculi* et *peritonei; Hydrothorax bilateralis + Ascites.* Venerische Infection wird von dem Patienten geleugnet. Der Kranke verliess das Krankenhaus schon am 22. Juli; während seines Aufenthaltes in demselben würde aber die Punction 3 mal vorgenommen und jedesmal etwa 7—8 Liter Flüssigkeit entleert.

Durch die Güte des Herrn J. Sjöqvist wurde die bei der letzten Punction entleerte Flüssigkeit für meine Rechnung aufgesammelt. Da ich nicht Gelegenheit hatte, dieselbe im Sommer zu verarbeiten, so wurde sie mit etwas Chloroform versetzt, um die Fäulniss zu verhindern, und dann bis zum September aufbewahrt.

Da ich diese Flüssigkeit im September zur Untersuchung erhielt, war sie zwar nicht in Fäulniss übergegangen; aber sie hatte ein sehr auffallendes Aussehen, indem sie nämlich fast milchweiss war. Nach einer brieflichen Mittheilung des Herrn Sjöqvist war die Flüssigkeit unmittelbar nach der Punction schwach gelblich grün, fast ganz klar, und sie hatte also ihr eigenthümlich milchiges Aussehen während oder in Folge der Aufbewahrung angenommen. Das Chloroform hatte also zwar die Fäulniss, aber nicht andere Veränderungen der Flüssigkeit verhindert, und da ich die Natur dieser Veränderungen nicht kannte, schien es mir von untergeordnetem Interesse zu sein, eine quantitative Analyse auszuführen. Auch eine eingehendere qualitative Untersuchung der Eiweissstoffe dieser Flüssigkeit fand ich wenig lohnend, da die Beschaffenheit derselben in der frischen Flüssigkeit mir unbekannt war. Ich untersuchte sie also nur auf einen Gehalt an Mukoïdsubstanzen und direct reducirenden Stoffen.

Bezüglich dieser letzteren habe ich zu erwähnen, dass ich in dieser Flüssigkeit, wie in den zwei vorigen, theils eine reducirende, gährungsunfähige und theils eine mit Hefe vergährende, reducirende Substanz gefunden habe, welch' letztere bei der Phenylhydrazinprobe Krystalle von dem Aussehen des Phenylglykosazons gab und also allem Anscheine nach Glykose war. Glykogen konnte ich in dieser Flüssig-

keit ebenso wenig wie in den zwei vorher besprochenen nachweisen.

Die Untersuchung der Flüssigkeit auf einen Gehalt an Mukoïdsubstanzen geschah in derselben Weise wie in den zwei vorigen Fällen und mit demselben Resultate. Ich konnte also aus der Flüssigkeit theils ein mit Essigsäure fällbares Mukoïd und theils Mucinalbumose isoliren. Diese letztere kam in der Flüssigkeit in viel grösserer Menge als jenes vor. Auch die in Alkohol löslichen Mucinpeptonsubstanzen konnte ich in diesem Falle nachweisen.

Hinsichtlich der qualitativen Reactionen stimmten die zwei Substanzen — das Mukoïd und die Mucinalbumose — so nahe mit den entsprechenden Substanzen aus den zwei anderen Bauchflüssigkeiten überein, dass kein wesentlicher Unterschied zwischen ihnen bestand. Das Mukoïd schien jedoch etwas weniger schwerlöslich in überschüssiger Essigsäure zu sein, und die Mucinalbumose gab zwar keine direct sichtbare Reduction bei der Trommer'schen Probe, gab aber mit der Babo-Meissner'schen Modification derselben einen schwachen positiven Ausschlag. Nach dem Sieden mit einer Mineralsäure gaben beide Substanzen dagegen eine schöne Trommer'sche Reaction.

Da die Menge der zwei Substanzen nur eine geringe war, habe ich nur den Stickstoffgehalt bestimmen können. Die Bestimmung gab folgende Zahlen:

Das Mukoïd

12,400 % N,

Die Mucinalbumose

10,804 % N.

Der Fall No. 4 betraf einen 39jährigen Ladendiener, welcher seit vielen Jahren in einer Spirituosenaffaire angestellt war und zum täglichen Genusse von alkoholischen Getränken reichlich Gelegenheit hatte. Der Kranke wurde am 5. August 1890 wegen einer linksseitigen Pleuritis in das hiesige Krankenhaus aufgenommen. Die Diagnose war: *Pleuritis sinistra + Cirrhosis hepatis (alcoholica vel luetica).* Es war jetzt kein Ascites vorhanden. Am 17. October wurde ein gelindes Oedem des linken Fusses beobachtet. Am 12. November war das Oedem ziem-

lich stark und es traten nun die ersten Zeichen eines *Ascites* auf. Am 21. November wurde die erste Punction vorgenommen und es wurden 4,5 Liter Flüssigkeit entleert. Unter den Zeichen einer stetig herabgesetzten Herzthätigkeit starb der Kranke am 3. December 1890. Am Tage vor dem Tode wurde eine Punction vorgenommen, und von der dabei entleerten Flüssigkeit erhielt ich einige Liter zur Untersuchung.

Die Section bestätigte die obige Diagnose. Ausser einer linksseitigen exsudativen Pleuritis mit Pericarditis war nämlich eine *Cirrhosis hepatis syphilitica*, jedoch ohne discrete Gummata, vorhanden. Ausserdem fand man auch eine, wahrscheinlich durch Ueberführung der Entzündung von der Pleura entstandene, während des Lebens jedoch nicht sicher zu diagnosticirende *Peritonitis exsudativa fibrinosa*.

Die von mir untersuchte Flüssigkeit, welche, wie oben bemerkt wurde, am Tage vor dem Tode des Patienten entleert wurde, war gelblich grün mit deutlicher, aber schwächerer Opalescenz als in den vorigen Fällen. Glykogen konnte ich in ihr nicht nachweisen. Die Flüssigkeit, welche ein ziemlich reichliches, von Blutkörperchen röthlich gefärbtes Gerinnsel enthielt, zeigte ein paar mal eine spärliche Nachgerinnung. Die später anzuführende qualitative Analyse bezieht sich aber auf die nicht mehr spontan gerinnende Flüssigkeit. Die alkalische Reaction entsprach nur etwa 0,090 % Na_2CO_3. Das sp. Gewicht war 1,0121.

Aus dieser Flüssigkeit konnte ich nach dem oben angegebenen Verfahren ebenfalls zwei Mukoïdsubstanzen isoliren. Die eine, welche ich nur in sehr geringer Menge erhielt, war ein durch Essigsäure fällbares Mukoïd, welches qualitativ wie das aus den drei vorigen Flüssigkeiten dargestellte sich verhielt. Die andere, welche in bedeutend grösserer Menge gewonnen werden konnte, war eine Mucinalbumose von denselben Eigenschaften wie die in den vorigen Fällen beschriebene. Da die Menge dieser Substanz nur zur Prüfung der qualitativen Reactionen, zu einer Aschenbestimmung und zur Feststellung des Stickstoffgehaltes eine genügende war, so kann ich nur den Stickstoffgehalt derselben angeben.

Die *Mucinalbumose* enthielt:

11,37 % N.

Die quantitative Analyse ergab für diese Flüssigkeit folgende Zusammensetzung:

Wasser	96,83 %,
Feste Stoffe	3,17 %,
Eiweiss	2,247 %,
Davon:	
Globulin	1,445 %,
Albumin	0,802 %,
Mukoïdsubstanzen	0,034 %,
Salze	0,670 %,
Davon:	
Unlösliche	0,040 %,
Lösliche	0,630 %,
Davon:	
Chlornatrium	0,468 %,
Extractivstoffe	0,219 %,
Reducirende Substanz (als Glykose berechnet)	0,030 %.

Den zwei anderen analysirten Ascitesflüssigkeiten gegenüber zeichnet sich diese durch einen niedrigeren Gehalt an löslichen Salzen, einen wesentlich niedrigeren Gehalt an Mukoïdsubstanzen und endlich durch eine andere Relation zwischen dem Globulin und dem Serumalbumin aus. Ueber die Ursache und Bedeutung dieser Verschiedenheiten kann ich Nichts angeben.

Der Fall No. 5 betraf wiederum einen Mann mit *Lebercirrhose* und der Fall No. 6 ein Mädchen, welches wahrscheinlich an *Tuberculosis Peritonei* litt.

In diesen zwei Fällen konnte ich die Gegenwart einer Mukoïdsubstanz in der Bauchflüssigkeit constatiren; da ich aber in beiden Fällen eine so kleine Flüssigkeitsmenge erhielt, dass ich die fragliche Substanz nicht in einer hinreichend grossen Menge isoliren konnte, lege ich auf diese zwei Fälle kein Gewicht und führe sie hier nur mehr beiläufig an.

Der Uebersicht halber stelle ich hier die Zahlen, welche bei der Elementaranalyse der aus den vier erstgenannten Flüssigkeiten isolirten Substanzen gefunden wurden, tabellarisch zusammen. Sämmtliche Zahlen beziehen sich auf die als aschefrei gedachte Substanz.

Das *Mukoïd* enthielt:

	C:	H:	N:
in Fall 1 . . .	51,40 %	6,80 %	13,01 %,
» » 2 . . .	—	—	13,10 %,
» » 3 . . .	—	—	12,40 %.

Die *Mucinalbumose* enthielt:

	C:	H:	N:
in Fall 1 . . .	49,79 %	6,96 %	11,42 %,
» » 2 . . .	49,87 %	6,88 %	11,40 %,
» » 3 . . .	—	—	10,804 %,
» » 4 . . .	—	—	11,37 %.

Ein Ueberblick dieser Zahlen zeigt für das Mukoïd aus den zwei ersten Flüssigkeiten eine so gute Uebereinstimmung, dass, wenn man die grosse Uebereinstimmung in qualitativen Reactionen hiermit zusammenhält, wohl kaum ein Zweifel darüber bestehen kann, dass das durch Essigsäure fällbare Mukoïd in beiden Fällen dasselbe gewesen ist. Aus ähnlichen Gründen dürfte man wohl auch den Schluss ziehen können, dass die Mucinalbumose in den Fällen 1, 2 und 4 dieselbe Substanz gewesen ist. Dagegen findet man, dass sowohl das Mukoïd wie die Mucinalbumose im Falle No. 3 um 0,6 % ärmer an Stickstoff als die entsprechenden Substanzen in den übrigen Fällen war. Dies könnte nun vielleicht daher rühren, dass diese Flüssigkeit ursprünglich nicht ganz dieselben Mukoïdstoffe wie die anderen enthielt; aber es könnte vielleicht auch die Folge einer während der Aufbewahrung stattgefundenen Veränderung der Flüssigkeit sein. Wie es hiermit sich verhält, kann ich nicht sagen.

Ob die Mukoïdsubstanzen der hier besprochenen verschiedenen Flüssigkeiten ganz identische Stoffe gewesen seien oder nicht, dürfte wohl vorläufig auch von verhältnissmässig untergeordneter Bedeutung sein; denn als wichtigstes Ergebniss dieser meiner Untersuchungen steht jedenfalls die Thatsache fest, dass ich in fünf Fällen bei Männern, wo also jede Beimengung von Pseudomucin aus einer Ovariengeschwulst absolut ausgeschlossen ist, in der Bauchflüssigkeit Mukoïdsubstanzen gefunden habe. In allen diesen fünf Fällen handelte es sich um eine Lebercirrhose, welche in den zwei zur Section

gekommenen Fällen unzweifelhaft syphilitischer Natur war. Bisher ist, wie oben bemerkt wurde, eine Mukoïdsubstanz bei nicht gleichzeitiger Anwesenheit einer Ovariengeschwulst nur in zwei Fällen, bei Carcinom, in Ascitesflüssigkeit sicher beobachtet worden, und meine Beobachtungen zeigen also, dass derartige Substanzen auch bei anderen Krankheiten in der Bauchflüssigkeit vorkommen können.

In den von Anderen beobachteten zwei Fällen hat man die gefundene Mukoïdsubstanz ohne Weiteres als Pseudomucin bezeichnet, was wohl kaum berechtigt sein dürfte. Als Pseudomucin habe ich nämlich nicht die Mukoïdsubstanzen überhaupt, sondern nur eine dem Mucin in gewisser Hinsicht sehr ähnliche in Ovarienflüssigkeiten vorkommende Substanz bezeichnet. Dass keine der in diesem Aufsatze beschriebenen Mukoïdsubstanzen wie das Pseudomucin sich verhält, ist offenbar; und für die Annahme, dass sie Spaltungsproducte eines in der Flüssigkeit ursprünglich vorkommenden Pseudomucins seien, liegen keine genügenden Gründe vor. Wenn nun auch diese Stoffe vielleicht nicht als solche in der Flüssigkeit präformirt enthalten waren, sondern in der That Spaltungsproducte einer complicirten Mukoïdsubstanz darstellen, so ist es jedoch darum gar nicht berechtigt, diese Muttersubstanz ohne Weiteres als Pseudomucin zu betrachten. Das von mir beschriebene Pseudomucin ist nämlich lange nicht die einzige in den Flüssigkeiten oder Geweben des Körpers, ja nicht einmal die einzige in den Ovarialflüssigkeiten vorkommende Mukoïdsubstanz. In der letzten Hinsicht kann ich auf die interessante Arbeit von Pfannenstiel hinweisen, und ich will besonders hervorheben, dass man in solchen Flüssigkeiten neben dem typischen Pseudomucin oft eine andere, bedeutend stickstoffärmere, durch Alkohol nicht faserig, sondern flockig fällbare, von Plósz, Landwehr und Pfannenstiel auch beobachtete Mukoïdsubstanz findet, welche das typische Pseudomucin leicht verunreinigt und dessen Stickstoffgehalt herabsetzt.

Da ich mich also nicht berechtigt sah, die in den Ascitesflüssigkeiten gefundenen Substanzen sei es als Pseudo-

mucin oder als dessen Zersetzungsproducte zu betrachten, so habe ich sie nur als Mukoïdsubstanzen, und zwar die durch Essigsäure fällbare Substanz einfach als Mukoïd und die andere als Mucinalbumose, bezeichnet.

Von praktischem Gesichtspunkte aus ist es jedoch gleichgültig, ob man die fraglichen Substanzen als Pseudomucin oder einfach als Mukoïde bezeichnet. Wenn das Pseudomucin in geringer Menge in einem Transsudate vorkommt, kann es nämlich nicht an seinen physikalischen Eigenschaften erkannt werden, und der Gang der Untersuchung wird in einem solchen Falle wohl derselbe wie bei der Untersuchung auf andere Mukoïdsubstanzen sein. Man muss also das Eiweiss durch Sieden unter Essigsäurezusatz coaguliren, das concentrirte Filtrat mit Alkohol fällen, den Niederschlag auf einen Gehalt an Glykogen prüfen, bei Abwesenheit desselben mit einer verdünnten Mineralsäure erhitzen und dann die Trommer'sche Probe ausführen. Wenn die letztgenannte Probe positiv ausfällt, dürfte es wohl gegenwärtig ohne eingehendere Untersuchung kaum möglich sein zu sagen, ob das Endproduct von zersetztem Pseudomucin oder von einer anderen Mukoïdsubstanz herrührt.

Ueber die Bedeutung des Vorkommens von Mukoïdsubstanzen in Ascitesflüssigkeiten müssen weitere Untersuchungen Auskunft geben. Man hat bekanntlich bei mehreren Gelegenheiten vergeblich nach solchen Substanzen in Ascitesflüssigkeiten gesucht; aber es ist doch denkbar, dass auch in diesen Fällen kleine Mengen solcher Substanzen vorhanden gewesen wären, wenn auch die in Arbeit genommene Flüssigkeitsmenge eine zu deren sicherem Nachweis ungenügende war. Ich finde es sehr wahrscheinlich, dass mukoïde Substanzen weit häufiger in Ascitesflüssigkeiten vorkommen als man bisher geglaubt hat, und ich kann die Möglichkeit nicht zurückweisen, dass die bisherigen spärlichen Befunde von solchen Substanzen eigentlich nur solche Fälle betreffen, wo die Flüssigkeit eine etwas grössere Menge einer sonst in den Transsudaten und vielleicht auch im Blute nur spurenweise vorkommenden Substanz enthalten haben. Andererseits gebe

ich jedoch die Möglichkeit gern zu, dass Blut und Transsudate gewöhnlichenfalls vielleicht ganz frei von Mukoïdsubstanzen seien und dass es in den nun beschriebenen Fällen wirklich um eine für solche Flüssigkeiten fremde Substanz sich gehandelt habe.

Eine weitere Erforschung dieser Verhältnisse überlasse ich denjenigen Forschern, welche über ein reichlicheres Untersuchungsmaterial als ich verfügen können. Durch diesen Aufsatz habe ich eigentlich nur die Aufmerksamkeit auf das wie es scheint nicht seltene Vorkommen von Mukoïdsubstanzen in Ascitesflüssigkeiten lenken wollen, um dadurch vielleicht eine Anregung zu weiteren Untersuchungen zu geben.

Ueber das Wesen der Alkaptonurie.

Von

M. Wolkow und **E. Baumann.**

(Der Redaction zugegangen am 8. Januar 1891.)

I.

Die chemische Natur der eigenthümlichen Substanz des Alkaptonharns.

Als Alkapton[1]) wurde von Bödeker eine von ihm im Harn eines Diabetikers entdeckte Substanz bezeichnet, durch welche diesem Harn zwei besondere Merkmale ertheilt wurden, ein sehr bedeutendes Reductionsvermögen, und die Eigenschaft, nach Zusatz von Alkalien unter Sauerstoffabsorption sich dunkelbraun bis schwarz zu färben. Wenige Stoffe haben bezüglich ihres Auftretens so mancherlei und einander widersprechende Deutungen erfahren als das Alkapton Bödeker's. Bei einem in der hiesigen chirurgischen Klinik beobachteten Falle von Alkaptonurie, dessen fortlaufende Untersuchung uns durch das freundliche Entgegenkommen von Herrn Prof. Kraske ermöglicht wurde, ist es uns gelungen, das Alkapton in reinem Zustande zu gewinnen, seine Constitution zu ermitteln, seine Abstammung aus den Producten des Stoffwechsels, und einige Bedingungen seiner Entstehung aufzufinden. Da hierdurch die Alkaptonfrage in ein neues Stadium eingetreten ist, mag es angezeigt erscheinen, zunächst einen kurzen Ueberblick über die Literatur dieses Gegenstandes, soweit sie uns zugänglich war, zu geben.

---

[1]) Von Alkali und κάπτειν, begierig verschlucken.

1. Die früheren Beobachtungen und Ansichten über Alkaptonurie.

Der von Bödeker[1]) beschriebene Fall betraf einen 44jährigen Mann, Diabetiker, welcher ausser den Erscheinungen der allgemeinen Schwäche auch an lumbo-abdominaler Neuralgie litt. Aus dem Harne, dessen rothbräunliche Färbung besonders auffiel, wurde das Alkapton auf folgendem Wege isolirt: Der Harn wurde zuerst mit neutralem Bleiacetat ausgefällt und die abfiltrirte Flüssigkeit mit basischem Bleiacetat versetzt. Der zuletzt erhaltene Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat nach der Entfernung von Schwefelblei eingedampft und mit Aether extrahirt. Nach dem Verdunsten blieb eine goldgelbe, glänzende, hygroskopische Masse übrig, aus welcher es nicht weiter gelang, eine reine chemische Verbindung abzuscheiden. Die Masse wurde klebrig an feuchter Luft, entwickelte beim Schmelzen einen widerlichen urinösen Geruch, beim Erhitzen mit Aetznatron flüchtige Producte von alkalischer Reaction; in Wasser und in Alkohol löste sie sich leicht auf, sehr wenig dagegen in wasserfreiem Aether. Die wässerige Lösung zeigte folgende Reactionen: Nach Zusatz von Alkalien trat unter Sauerstoffabsorption Bräunung ein, sie reducirte Lösungen von salpetersaurem Quecksilber, von Uebermangansäure und von Chromsäure; Fehling'sche Lösung wurde beim Erwärmen reducirt. Aus ammoniakalischer Silberlösung wurde in der Kälte Silber abgeschieden, mit neutraler Silberlösung trat Reduction erst beim Erwärmen ein. Die Wismuthprobe blieb aus. Mit Hefe zeigte die Lösung keine Spur einer Gährung. Mit Eisenchlorid färbte sie sich dunkelbraun. Bödeker hielt sein Alkapton für eine stickstoffhaltige Substanz.

Im Jahre 1875 erschien eine Mittheilung Fürbringer's[2]), welcher an dem Harne eines 29 Jahre alten Phthisikers alle

[1]) Ueber das Alkapton, ein neuer Beitrag zur Frage: welche Stoffe des Harns können Kupferreduction bewirken? Zeitschr. f. rat. Medicin, 1859, Bd. VII, S. 130; Ann. d. Chem., Bd. 117, S. 98 (1861).

[2]) Beobachtungen über einen Fall von Alkaptonurie, Berl. klin. Wochenschr., 1875, No. 23 u. 24.

von Bödeker über den Alkaptonharn gemachten Angaben — mit alleiniger Ausnahme der Chromsäurereaction — bestätigt fand. Die Obduction constatirte Miliartuberculose. Versuche, das Vorhandensein von Alkapton im Pericardialexsudate, in entfärbtem Blut, sowie im wässerigen Nierenauszuge nachzuweisen, blieben erfolglos.

In demselben Jahre erschien eine Arbeit von Ebstein und Müller[1]) über einen ähnlichen Fall bei einem Kinde von $1^1/_2$ Jahren. Eine Verdunkelung des Harns an der Luft wurde hier schon von dem 10. Tage der Geburt an bemerkt. Der Harn wurde in folgender Weise verarbeitet: Der eingedampfte Harn wurde mit Alkohol extrahirt, der verdunstete Alkoholauszug wurde mit Aether ausgeschüttelt, welcher die die Braunfärbung bedingende Substanz völlig aufnahm. Der Aether hinterliess beim Verdunsten eine gelbe, syrupdicke Masse, deren wässerige Lösung nachfolgende Reactionen zeigte: Schwärzung von Alkalien, Reduction von Silbernitratlösung in der Kälte, von Gold- und Platinchlorid, von Fehling'scher Lösung und von Permanganat, dunkelgrüne Färbung mit Eisenchlorid, welche nach Zusatz von Weinsäure und Ammoniak in Violett übergingen. Nach dem Verdunsten der wässerigen Lösung wurden weisse säulenförmige Krystalle erhalten, deren Analyse nicht ausgeführt wurde. Auf Grund der Eigenschaften dieser Substanz erklärten sie die Verfasser für Brenzcatechin.

Diese Auffassung war für die Frage der Alkaptonurie von Bedeutung, weil sie eine einfache Erklärung dieser Erscheinung zu liefern schien.

Fleischer[2]) beobachtete darauf einen Harn, dessen Verhalten mit dem von Fürbringer beschriebenen Alkaptonharn übereinstimmte, aus welchem eine kleine Quantität Brenzcatechin dargestellt werden konnte. Ein sehr ähnliches Verhalten beobachtete Fleischer bei dem Harn mehrerer mit

---

[1]) Brenzcatechin in dem Urin eines Kindes, Virch. Arch., Bd. 62, S. 554 (1875).

[2]) Berl. klin. Wochenschr., 1875, No. 39—40.

Salicylsäure behandelter Kranker, wobei aber die im ersteren Falle mit Ammoniak eintretende Bräunung des Harns fehlte.

Nach diesen Untersuchungen wurde die Existenz des Alkaptons als einer besonderen Substanz ernstlich in Frage gestellt. Bödeker selbst sprach in einer Mittheilung an Fürbringer[1]) die Ansicht aus, dass sein Alkapton Brenzcatechin enthalten haben möchte, und Fürbringer spricht sich dafür aus, dass alle mitgetheilten Fälle von Alkaptonharn als Brenzcatechinurie anzusehen seien.

Diese Ansicht erhielt eine weitere Stütze, als Baumann[2]) zeigte, dass das Brenzcatechin ein normaler Bestandtheil des Pferdeharns ist und wenn nicht regelmässig, so doch sehr häufig in wechselnden Mengen im menschlichen Harn auftritt. Hier wurden zum ersten Male Beobachtungen über die Entstehung des Brenzcatechins im Organismus mitgetheilt, nach welchen die Pflanzennahrung die Quelle der Bildung desselben darstellt. Spätere Versuche von Preusse[3]) ergaben eine weitere Bestätigung dieses Schlusses und zeigten, dass die in der Pflanzenwelt weit verbreitete Protocatechusäure im Organismus zum Theil in Brenzcatechin verwandelt wird.

Nach den bis dahin vorliegenden Erfahrungen war man berechtigt, die sogenannte Alkaptonurie als die bisweilen äusserst vermehrte Ausscheidung eines normalen Harnbestandtheiles anzusehen. In diesem Sinne äussern sich auch Salkowski und Leube[4]): «Wahrscheinlich identisch mit Brenzcatechin ist das Alkapton von Bödeker und Fürbringer.»

Dass indessen die Ursache des eigenthümlichen Verhaltens des Alkaptonharns nicht oder nicht immer das Brenzcatechin sei, hat zuerst W. Smith[5]) ausgesprochen, welcher am Harn eines 3jährigen Mädchens die früher beschriebenen Reactionen

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr., 1875, No. 28.

[2]) Pflüger's Archiv, Bd. 16, S. 63.

[3]) Diese Zeitschr., Bd. 2, S. 329.

[4]) Die Lehre vom Harn, Berlin 1882, S. 146.

[5]) On the occurence of Protocatechuic acid in urine. Dubl. Journ. of med. science, 1882, T. I. p. 465.

und Reductionserscheinungen beobachtete. Der Harn färbte sich mit Eisenchlorid deutlich grün und gab eine schwache Reaction mit der Wismuthprobe. Interessant ist die Angabe der Mutter des Kindes, dass die Bräunung des Urins während einer Unpässlichkeit des Kindes besonders auffällig sei (this was more noticeable whenever the child had a cold or other slight ailment). Der Harn wurde nach dem Verfahren von Bödeker behandelt. Die wässerige Lösung der auf diesem Wege gewonnenen Substanz gab mit Eisenchlorid eine bläulich grüne Färbung und bräunte sich stark auf Zusatz von Alkalien; sie unterschied sich aber von dem Brenzcatechin dadurch, dass sie mit Wasserdampf sich nicht verflüchtigte und der mit Soda alkalisch gemachten Lösung durch Aether nicht entzogen werden konnte. Smith schloss daraus, dass der Harn nicht Brenzcatechin, sondern Protocatechusäure enthalten habe.

Eine ganz neue Vorstellung über die Alkaptonurie wurde durch Untersuchung von Kirk[1]) entwickelt. Dieser Forscher beobachtete eine Familie, von welcher 3 jüngere Kinder einen Harn lieferten, welcher wie Alkaptonharn sich verhielt, während der Harn des älteren Bruders und der Eltern normales Verhalten zeigte. Die Kinder waren, obwohl nicht sehr kräftig, gesund von Aussehen, die Harnentleerung war häufig, aber schmerzlos. Die Untersuchung des Harns nach dem Verfahren von Müller und Ebstein lieferte eine Substanz, welche in ihrem Verhalten manche Aehnlichkeit mit der Protocatechusäure zeigte. Sie erwies sich aber von letzterer verschieden, z. B. bei der Reaction mit Fehling'scher Lösung, ferner durch ihr Verhalten gegen Eisenchlorid, wobei sie nur vorübergehend grün gefärbt wird, und durch ihre leichte Löslichkeit in Wasser. Kirk erhielt aus dem Harn krystallisirte Säure, deren Eigenschaften denen des Bödeker'schen Alkaptons und des Brenzcatechins sehr ähnlich waren, auf folgendem Wege: Der mit Salzsäure angesäuerte Harn wurde

[1]) On a new acid found in human urine, which darkens with alkalies. Brit. Med. Journ., 1886, T. II, p. 1017.

auf $^1/_{10}$ seines Volums eingedampft und wiederholt mit Aether ausgeschüttelt; aus dem aromatisch riechenden Aetherextract krystallisirte nach dem Verdunsten des Aethers eine braun gefärbte stickstofffreie Säure in sternförmigen Gruppen. Ihre Lösung bräunte sich mit Alkalien unter Absorption von Sauerstoff, reducirte Fehling'sche Lösung und färbte sich mit Eisenchlorid deutlich, aber vorübergehend grün. Die wässerige Lösung war gelb gefärbt und wurde roth beim Eindampfen, wobei ein dunkler Niederschlag gebildet wurde. Kirk belegte die von ihm isolirte Säure mit dem Namen «Urrhodinsäure» und betrachtete sie als das Product einer tiefen Aenderung oder einer Hemmung (arrest) des Stoffwechsels.

Einen der Urrhodinsäure sehr ähnlichen Körper hat Marshall[1]) unter dem Namen «Glycosursäure» beschrieben. Der diese Substanz enthaltende Harn stammte von einem vollständig gesunden Manne. Die Glycosursäure wurde folgendermassen dargestellt:

Der Harn wurde mit basischem Bleiacetat ausgefällt, der Niederschlag mit einer Mischung von gleichen Theilen Wasser und Alkohol ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt; nach dem Abfiltriren des Schwefelbleies wurde die Flüssigkeit mit Bleicarbonat einige Minuten gekocht und noch heiss filtrirt. Nach dem Eindampfen des Filtrates krystallisirte das Bleisalz in der Kälte aus, aus welchem durch erneute Zerlegung mittelst Schwefelwasserstoff die Säure abgeschieden und durch Umkrystallisiren aus wasserhaltigem Aether gereinigt wurde. Die reine Säure bildet farblose tetragonale Prismen vom Schmelzpunkt 140°, löst sich leicht in Wasser, Alkohol und Aether, in Benzol, Toluol und Petroläther ist sie unlöslich. Beim Eindampfen der Aetherlösung über 60° scheiden sich röthlich bis purpurn gefärbte Krystalle aus; diese Färbung verschwindet beim Lösen in Wasser. Die Säure enthält weder Stickstoff noch Schwefel, und zeigt fol-

---

[1]) Crystalline acid in urine possessing more powerfull reducing properties than glucose. Am. Journ. Pharm. 1887, T. 59, p. 131.

gende Eigenschaften: Bräunung mit Alkalien, Absorption von Sauerstoff durch die alkalische Lösung, Reduction von Silbernitrat in der Kälte, von Fehling'scher Lösung in der Wärme; Wismuthoxyd wird dagegen nicht reducirt. Die Lösung ist optisch inactiv und nicht vergährbar. Mit Eisenchlorid entsteht eine blaue, rasch vorübergehende Färbung. Das Bleisalz der Säure bildet nadelförmige Prismen, welche bei 209,5° schmelzen; es ist löslich in heissem Wasser, unlöslich in Benzol, Toluol, Petroläther, Alkohol und Aether. Das Krystallwasser enthaltende Bleisalz zeigte einen Gehalt von 33,58 % Blei.

Hierher gehört auch eine Beobachtung von Barton Brune[1]), welcher aus dem Harn eines jungen Mannes, welcher die oft genannten Reductionserscheinungen und Verfärbungen zeigte, nach dem Verfahren von Smith (l. c.) eine krystallisirte Säure darstellte, von welcher er erkannte, dass sie mit Protocatechusäure nicht identisch sei. Ihre Lösung gab mit Eisenchlorid eine vorübergehende bläulich grüne Färbung. Barton Brune hält es für wahrscheinlich, dass die von Bödeker, Ebstein und Müller, Smith, Kirk beschriebenen Körper identisch seien und keine bestimmte pathologische Bedeutung hätten.

Im Jahre 1889 erschien eine äusserst interessante weitere Arbeit von Kirk[2]), welcher bei der ferneren Untersuchung der von ihm entdeckten Urrhodinsäure fand, dass diese Säure noch ein Gemenge von zwei oder mehr Körpern darstelle, aus welchem die Abscheidung einer ganzen reinen Substanz durch fractionirte Fällung in folgender Weise gelang: Die durch Lösen der Urrhodinsäure in wenig warmem Wasser entstandene braunrothe Flüssigkeit wurde mit so viel einer gesättigten Lösung von Bleiacetat versetzt, bis das von dem abgeschiedenen dunkeln Niederschlag getrennte Filtrat nur noch gelb gefärbt erschien. In diesem wurde krystallisirtes Bleiacetat verrieben, wobei ein rahmfarbiger Niederschlag,

---

[1]) A reducing substance in urine resembling glucose. Boston Med. Journ., 1886, T. 115, p. 621, und T. 116, p. 83.

[2]) On a new acid found in human urine, which darkens with alkalies (alkaptonuria). Journ. of anatomy and physiology, T. 23, p. 69, 1889.

welcher abfiltrirt, ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt wurde. Das Filtrat wurde im Vacuum verdunstet, oder mit viel Aether ausgeschüttelt; nach dem Verdunsten des Aethers bei niederer Temperatur wurden nadelförmige gelbliche Krystalle erhalten, welche schon bei schwachem Erwärmen sich bräunten. Die durch Umkrystallisiren aus Aether gereinigte Substanz bildet farblose Krystalle, welche bei 133° schmelzen. Durch die Analyse wurde die empirische Formel $C_9H_{10}O_5$ ermittelt. Der neue Körper erhielt den Namen Uroleucinsäure.

Aus dem gelb gefärbten Filtrat vom Bleiniederschlag, welches die Uroleucinsäure enthielt, isolirte Kirk eine zweite Substanz von saurer Reaction, welche mit Aether extrahirt und in Form einer gelben amorphen Masse erhalten wurde. Diese Säure besitzt die gleichen Eigenschaften wie die Uroleucinsäure, von welcher sie nur dadurch sich unterscheidet, dass sie die Wismuthprobe nicht liefert; sie soll bedeutend mehr Sauerstoff als die letztere enthalten. Diese bis jetzt nicht analysirte Substanz wurde von Kirk Uroxanthinsäure benannt, und, wegen des Verhaltens bei der Wismuthprobe, als diejenige Substanz betrachtet, welche am meisten dem Alkapton Bödeker's entspricht.

Die Uroleucinsäure krystallisirt aus Aether in Drusen oder Garben nadelförmiger Krystalle oder in einzelnen schräg abgeschnittenen Prismen. Sie löst sich in ca. 5 Theilen Aether, in etwa 6 Theilen Alkohol, in 25 Theilen kaltem und in 20 Theilen heissem Wasser, in Chloroform und Petroläther. Die wässerige Lösung färbt sich beim Stehen allmälig, beim Eindampfen schnell, dunkel unter Zersetzung. Neutrales Bleiacetat gibt mit einer 2procentigen Lösung einen schwachen Niederschlag, während eine 0,25procentige Lösung nicht mehr gefällt wird. Durch basisches Bleiacetat entstehen auch in verdünnteren Lösungen Niederschläge. Das Bleisalz ist in kaltem Wasser sehr schwer, leichter in heissem Wasser löslich. Die wässerige Lösung der Uroleucinsäure wird mit Eisenchlorid grün gefärbt, diese Färbung verschwindet aber fast augenblicklich. Gegen Millon's Reagens zeigt die Uro-

leucinsäure ein der Gallussäure ganz ähnliches Verhalten, d. h. sie gibt zuerst einen ziegelrothen Niederschlag, der beim Kochen grau-braun wird [Huppert[1])]. Die Uroleucinsäure ist nach Kirk eine einbasische Säure. Huppert (l. c.) hat wegen mancher Beziehungen dieser Säure zu der Gallussäure eine Vermuthung ausgesprochen, welche durch unsere Versuche eine wesentliche Bestätigung erfährt, dass nämlich die Uroleucinsäure als eine Trioxyphenylpropionsäure anzusehen sei.

2. Ist die Alkaptonurie eine pathologische Erscheinung?

Dass die Alkaptonurie nicht als das Symptom einer besonderen Krankheit aufzufassen, darüber sprechen sich Alle, welche diese Erscheinung beobachtet haben, übereinstimmend aus. Der Umstand, dass dieselbe relativ häufig bei sehr verschiedenen Erkrankungen beobachtet worden ist, darf auch nicht wohl für die Ansicht Kirk's[2]), dass die Urrhodinsäure, d. i. das Alkapton, das Product einer tiefen Aenderung oder Hemmung des Stoffwechsels sei, geltend gemacht werden. Die Erfahrung, dass die Alkaptonurie auch bei gesunden Personen fast jeglichen Alters auftritt, spricht vielmehr dafür, dass die Alkaptonurie eine nicht ganz seltene Erscheinung ist, welche bei Kranken nur desshalb häufiger wahrgenommen wird, weil deren Harn im Allgemeinen eine grössere Aufmerksamkeit als dem von Gesunden geschenkt wird. Diese Auffassung erhält durch den von uns beobachteten Fall von Alkaptonurie eine eclatante Bestätigung. Bei einem 67jährigen bis vor Kurzem ganz gesunden Manne bestanden nach dessen Versicherung alle äusseren Merkmale der Alkaptonurie während seines ganzen Lebens seit früher Kindheit; dass dieselben aber eine wirkliche Alkaptonurie anzeigten, wurde erst nach der Aufnahme dieses Mannes in der chirurgischen Klinik von Herrn Prof. Kraske erkannt.

---

[1]) Huppert, Analyse des Harns, Wiesbaden 1890, S. 152 u. 155.
[2]) Brit. Med. Journ., 1886, T. II, p. 1017.

Bei einer vorübergehenden Behandlung desselben Individuums in einem Krankenhause hatte wenige Monate vorher die dunkle Farbe des Harns des Patienten keine Beachtung gefunden.

Der Kranke ist am 28. Mai 1890 in die chirurgische Klinik aufgenommen worden, zunächst um wegen schon länger bestehender Urinbeschwerden auf Vorhandensein eines Blasensteines untersucht zu werden. Es stellte sich aber heraus, dass ein solcher nicht vorhanden war. Die Diagnose wurde auf Carcinom der Prostata gestellt.

Eine Mittheilung der Krankengeschichte nebst einigen Ergebnissen der Harnuntersuchung dieses Falles ist kürzlich von P. Kraske und dem Einen von uns veröffentlicht worden[1]). Wir geben im Folgenden einige Sätze aus dieser Mittheilung wörtlich wieder, weil sie für die allgemeine Beurtheilung des Falles von besonderem Interesse sind.

«Der Kranke, dem es nicht entging, dass seinem Urin und insbesondere der Verfärbung desselben eine grosse Aufmerksamkeit geschenkt wurde, machte sofort darauf aufmerksam, dass das Dunkelwerden seines Urins eine Erscheinung sei, die sich bereits seit seiner frühesten Kindheit gezeigt hätte. Sie sei bald stärker, bald schwächer gewesen; niemals aber hätte sie ganz gefehlt. Ein Einfluss der Lebensweise auf die Intensität der Verfärbung sei von ihm nicht bemerkt worden. Auch habe sich seit dem Eintritt der Harnbeschwerden Nichts daran geändert. Da der Kranke sich stets wohl befunden hat, ist er nicht veranlasst worden, dem abnormen Verhalten seines Urins eine besondere Bedeutung beizulegen.»

Hiernach kann es keinem Zweifel unterliegen, dass es sich bei dem Kranken um eine Stoffwechselanomalie handelte, welche bereits während seines ganzen Lebens bestanden hatte und zu seinem Prostataleiden jedenfalls in gar keiner Beziehung stand.

---

[1]) Münchener med. Wochenschr., 1891, No. 1.

3. Untersuchung des Harns.

Der frisch entleerte Harn zeigte eine stroh- bis bernsteingelbe Farbe und meist schwach saure Reaction; das specifische Gewicht schwankte bei gewöhnlicher Spitalkost zwischen 1,010 und 1,014, bei vorwiegender Fleischnahrung zwischen 1,014 und 1,020. Die Harnmenge betrug während der Zeit mit gemischter Nahrung durchschnittlich 2 Liter und sank bei vorwiegender Fleischnahrung auf 1,5 Liter pro Tag.

Der Harn reducirte alkalische Kupferlösung schon beim schwachen Erwärmen, ammoniakalische Silberlösung sofort in der Kälte. Dagegen trat die Wismuthprobe in Uebereinstimmung mit den Angaben von Bödeker (l. c.), Fürbringer (l. c.), Marshall (l. c.), Kirk (l. c.) nicht ein.

Der Harn ging immer bald in ammoniakalische Gährung über. Beim Stehen trat schon bevor der Harn alkalisch reagirte, nach einigen Stunden eine von der Oberfläche ausgehende grünlich braune Verfärbung ein; bei ganz ruhigem Stehen war die Entwickelung dieser Veränderung ganz ähnlich derjenigen, welche der Pferdeharn unter den gleichen Umständen erfährt[1]), und nicht wesentlich verschieden von dem äusseren Verhalten eines Carbolharnes. Beim Umschütteln des alkalisch gewordenen Harns ging die Farbe in Dunkelbraun bis Schwarz über. Augenblicklich trat diese Veränderung ein, wenn man den mit einigen Tropfen Natronlauge oder Ammoniak versetzten Harn umschüttelte. Dabei wurde Sauerstoff reichlich absorbirt.

Bei der Destillation des Harns mit Salzsäure gingen Spuren von flüchtigen Phenolen, wie aus normalem Harn über. Der Nachweis der Indoxylschwefelsäure gelang im Harn nicht direct, wohl aber nach Fällen mit Bleiacetat im Filtrate des Bleiniederschlages, aus welchem das Blei zuvor durch Schwefelwasserstoff entfernt war. Ihr Menge war ungefähr normal. Auch die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren war nicht vermehrt. Der Harn war optisch inactiv.

---

[1]) Vergl. E. Baumann, Pflüger's Arch., Bd. 12, S. 63.

Der Träger der reducirenden Eigenschaften des Harns wurde letzterem nach starkem Ansäuern durch oft wiederholtes Ausschütteln mit grossen Mengen von Aether entzogen. Beim Schütteln des Aetherauszuges mit verdünnter Sodalösung nahm letztere unter Braunfärbung die reducirende Substanz völlig auf. Dem entsprechend wurde dem nicht angesäuerten Harn beim Schütteln mit Aether Nichts von dem reducirenden Stoff entzogen.

Nach dem Verdunsten des Aethers hinterblieb ein stark saurer, dunkel rothbraun gefärbter, aromatisch riechender Syrup, welcher in Wasser sich leicht beinahe völlig löste; in Weingeist und Aether löste er sich zu einer braunen klaren Flüssigkeit auf. Die Lösungen dieser Substanz zeigten in ihrem Verhalten eine so grosse Aehnlichkeit mit den von Kirk beschriebenen Eigenschaften der Urrhodinsäure beziehungsweise der Uroleucinsäure, dass wir nicht anders glaubten, als dass die von Kirk entdeckten Stoffe uns vorlägen.

Es wurde desshalb zunächst eine Quantität von circa 5 Litern des Harns nach dem Verfahren Kirk's zur Darstellung der Uroleucinsäure verarbeitet:

Der auf $^1/_{10}$ seines Volums verdampfte Harn wurde mit Aether extrahirt, um verunreinigende Stoffe zu beseitigen. Da der eingedampfte Harn stark sauer reagirt, geht beim Ausschütteln mit Aether auch etwas von der reducirenden Säure in denselben über und wird bei dieser Verarbeitung verloren. Der nach dem Verdunsten des Aethers erhaltene Syrup wurde in wenig warmem Wasser gelöst, und die Lösung mit Bleiacetat — zur Entfernung färbender Stoffe — versetzt, das gelb gefärbte Filtrat des Bleiniederschlages wurde mit Bleizuckerkrystallen verrieben, wobei die Flüssigkeit sich in einen dünnen Brei verwandelte. Diese zweite Bleifällung wurde abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt; dem Filtrat vom Schwefelblei wurde die darin enthaltene Säure durch Ausschütteln mit Aether wieder entzogen und die ätherische Lösung bei gewöhnlicher Temperatur verdunstet. Dabei wurde ein bräunlich gefärbter Syrup erhalten, welcher über Schwefelsäure zu

einer strahligen Krystallmasse allmälig erstarrte. Dabei zeigte sich die auffällige Erscheinung, dass neben den nadelförmigen Krystallen sich Körnchen und Gruppen blauer Massen bildeten, deren Entstehung durch einen Oxydationsvorgang bedingt erschien. Verdunstete man die ätherische Lösung der Säure in der Wärme, so trat diese Umwandlung noch schneller ein, dabei entstanden aber auch dunkel gefärbte Producte, durch welche die Reinigung der Säure weiter erschwert wurde. Bei den weiteren Versuchen, die Säure zu reinigen, ging der grössere Theil der Substanz verloren. Schliesslich gelang es, einen kleinen Theil derselben in nahezu reinem Zustande auf folgende Weise zu gewinnen: Die Lösung der aus dem Bleisalz abgeschiedenen unreinen Säure in wenig wasserfreiem Aether wurde mit dem 20fachen Volum Chloroform vermischt und in einem offenen Becherglase bei Seite gestellt; in dem Maasse, als der Aether verdunstete, krystallisirte in Gruppen von kaum gefärbten Nadeln und Prismen die gesuchte Säure aus.

Die Vergleichung der Eigenschaften der Säure mit denen der Uroleucinsäure Kirk's liess alsbald erkennen, dass unsere Säure der Uroleucinsäure in vielen Beziehungen sehr ähnlich, jedenfalls aber mit ihr nicht identisch sei.

Der Schmelzpunkt unserer Säure lag bei 147°, während die Uroleucinsäure bei 133° schmilzt. Unsere Säure war in Wasser, Alkohol und Aether wesentlich leichter löslich als die Uroleucinsäure; es ergab sich keine Möglichkeit, die Säure, wie Kirk für die Reinigung der Uroleucinsäure empfahl, aus Aether umzukrystallisiren.

Die wässrige Lösung unserer Säure gab mit verdünnter Auflösung von Eisenchlorid eine fast sofort verschwindende blaue Färbung, während die Uroleucinsäure dabei eine unbeständige Grünfärbung zeigt. Die wässerige Lösung unserer Säure gab auch bei einer Concentration von 1 % mit Bleiacetat sofort eine krystallinische Fällung, während die Uroleucinsäure erst bei einer Concentration von 2 % einen schwachen Niederschlag mit Bleizucker gibt. Eine Lösung von 0,2 % unserer Säure wurde durch Bleiacetat nicht als-

bald gefällt, nach einiger Zeit aber krystallisirte das sehr schwer lösliche Bleisalz aus. Durch dieses Verhalten unserer Säure fand der Umstand, dass wir nach dem Kirk'schen Verfahren eine nur sehr geringe Ausbeute an der Säure erhielten, eine einfache Erklärung, denn sie war zum allergrössten Theil in der ersten Bleifällung, welche anfangs beseitigt wurde, enthalten.

Unter diesen Umständen erschien es geboten, zunächst ein für die Gewinnung hinreichender Mengen der Substanz geeignetes Verfahren ausfindig zu machen, welches im folgenden Abschnitt beschrieben wird.

4. Homogentisinsäure,

$$C_6H_3 \begin{cases} OH \\ OH \\ CH_2 \cdot COOH. \end{cases}$$

Bei den verschiedensten Versuchen, eine möglichst vollständige Abscheidung der eigenthümlichen Säure des Alkaptonharns zu erzielen, zeigte sich, dass erhebliche Verluste derselben in keinem Falle ausgeschlossen werden konnten. Wir blieben desshalb schliesslich bei einem durch seine Einfachheit sich empfehlenden Verfahren stehen, bei welchem man, wie sich später zeigte, allerdings nur einen Theil der wirklich vorhandenen Säure gewinnt, welches aber erhebliche Schwankungen in der Ausscheidung der Säure, weil der Fehler ziemlich gleich blieb, gut anzeigte.

Die Methode ist folgende: Der Harn von 24 Stunden wird mit 250 cbcm. verdünnter Schwefelsäure (von 12 %) angesäuert und mit dem gleichen Volum Aether 3mal ausgeschüttelt. Dabei wird der grössere Theil der reducirenden Substanz dem Harn entzogen, während ein kleinerer Theil derselben in der grossen Menge der wässerigen Flüssigkeit festgehalten wird, so zwar, dass noch oft wiederholte Extraction mit Aether weitere kleine Mengen der Säure liefert. Verdunstet man die mit Aether erschöpfte Flüssigkeit auf die Hälfte des Volums, so wird bei der erneuten Extraction vom

Aether wieder etwas Säure aufgenommen, welche aber durch Beimengungen verunreinigt ist[1]).

Der nach dem Abdestilliren des Aethers zurückbleibende rothbraune Syrup, welcher bei längerem Stehen zur Krystallmasse erstarrt, wurde in 250 cbcm. Wasser gelöst. Die bis nahe zum Sieden erwärmte Lösung wird mit 30 cbcm. neutraler Bleiacetatlösung (1 : 5) versetzt und von einer meist geringen Menge eines harzigen braun gefärbten Niederschlages möglichst schnell durch ein Faltenfilter abfiltrirt. Aus der mehr oder weniger stark gelb gefärbten Flüssigkeit schiessen beim Erkalten durchsichtige Nadeln und Prismen des Bleisalzes der Säure an, welches in kaltem Wasser fast unlöslich ist, in überschüssiger Bleiacetatlösung aber etwas leichter als in Wasser sich löst. Da bei den Darstellungen stets gleich grosse Mengen Bleizucker und Lösungsmittel angewendet wurden, schien die Annahme berechtigt, dass die Quantität des gelöst bleibenden Bleisalzes auch gleich bliebe; diese Voraussetzung trifft indessen auch dann nur annähernd zu, wenn von der Säure selbst ungefähr gleiche Mengen im Harn enthalten sind.

Das nach 24stündigem Stehen abgeschiedene Bleisalz wurde auf einem Filter gesammelt, mit wenig Wasser gewaschen, zuerst an der Luft, dann über Schwefelsäure getrocknet und gewogen. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen werden in einem folgenden Kapitel besprochen werden.

Das von vielen Tagen so gewonnene Bleisalz, welches gelb bis hellbraun gefärbt war, diente als Ausgangsmaterial zur Darstellung der reinen Säure und ihrer Verbindungen. Versuche, das in kaltem Wasser fast unlösliche Bleisalz durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser völlig zu reinigen, schlugen fehl, weil beim Kochen der Lösung des Salzes eine geringe

---

[1]) Versuche, die Säure aus dem eingedampften Harn abzuscheiden, ergaben, dass in diesem Falle der Aether die Säure vollständiger aufnahm, dass aber ein Theil der Säure schon durch das Eindampfen verloren ging und die Reinigung der Säure erschwert war. Desshalb wurde von weiteren Versuchen, den eingedampften Harn zu verarbeiten, Abstand genommen.

Zersetzung eintritt, durch welche immer von Neuem gefärbte Producte entstehen, die zum Theil als amorpher Niederschlag sich abscheiden. Bei längerem Erhitzen der Lösung der an sich geruchlosen Substanz tritt ein scharfer stechender Geruch auf, der auch bei der Verarbeitung unreiner Lösungen der freien Säure bemerkt wird.

Es wurde desshalb davon Abstand genommen, das Bleisalz, das, abgesehen von geringen Mengen färbender Materien, fast ganz rein war, weiter zu reinigen. Das fein zerriebene Bleisalz wurde unter Wasser mit Schwefelwasserstoff zerlegt, und die vom Schwefelblei befreite Lösung im Wasserbade in flachen Schalen so weit verdunstet, bis die anfangs fast farblose Flüssigkeit sich dunkel zu färben begann; dann wurde sie im Vacuum bis nahe zur Syrupsconsistenz weiter eingeengt, wobei die Abscheidung von fast ungefärbten, durchsichtigen grossen prismatischen Krystallen erfolgte, welche zwischen Papier abgepresst, an der Luft rasch getrocknet und in ein verschlossenes Gefäss gebracht wurden. Diese Krystalle enthalten Wasser, welches sie schon bei gewöhnlicher Temperatur unter schnell eintretender Verwitterung verlieren, wobei sie undurchsichtig werden und zerfallen. Das Krystallwasser entweicht bei gewöhnlicher Temperatur völlig, wenn die Krystalle 24 Stunden über Schwefelsäure gestellt werden.

Die Analyse der trockenen Substanz führte zu der Formel $C_8H_8O_4$.

I. 0,1847 gr. Substanz gaben:
0,3890 gr. CO_2 = 57,43 % Kohlenstoff und
0,0810 » H_2O = 5,29 » Wasserstoff.

II. 0,2146 gr. Substanz gaben:
0,4509 gr. CO_2 = 57,30 % Kohlenstoff,
0,1023 » H_2O = 5,28 » Wasserstoff.

		Berechnet:	Gefunden: I.	Gefunden: II.
C_8 =	96	57.14	57,43	57,30
H_8 =	8	4,76	5,29	5,28
O_4 =	64	38,10	—	—
	168	100,00		

Krystallwasserbestimmung:

0,825 gr. Substanz verloren über Schwefelsäure 0,078 gr. Wasser = 9,45 %.

	$C_8H_8O_4 + H_2O$ Berechnet:	Gefunden:
Krystallwasser	9,67 %	9,45 %.

Die Säure krystallisirt somit mit 1 Mol. Wasser. Trocknet man die Säure bei 100°, so verliert sie durch Anhydridbildung ein weiteres Molecul Wasser. Bei wenig über 100° sublimiren feine, in Wasser unlösliche Krystalle des Anhydrids.

Die Säure schmilzt bei 146,5 bis 147° unter Gelbfärbung. Sie ist im wasserfreien Zustande nicht hygroskopisch. In Wasser, Weingeist und Aether löst sie sich sehr leicht auf. Sie kann am besten aus Wasser umkrystallisirt werden, wobei wegen der grossen Löslichkeit erhebliche Verluste nicht zu vermeiden sind. In Chloroform, Benzol, Toluol ist die Säure auch in der Wärme fast unlöslich. Die wasserfreie Säure erhält man in durchsichtigen Blättchen, wenn man zu der Lösung in wenig absolutem Alkohol siedendes Chloroform im Ueberschuss hinzu gibt und langsam erkalten lässt.

Die wässerige Lösung der Säure färbt sich bei längerem Stehen an der Luft dunkel. Mit Ammoniak oder Natronlauge tritt sofort Braun- bis Schwarzfärbung ein, ebenso wirken auch schon Alkalicarbonate. Mit Silberlösung entsteht im ersten Augenblick keine Reaction, nach wenigen Secunden aber färbt sich die Flüssigkeit dunkel, während metallisches Silber abgeschieden wird. Diese Reduction erfolgt augenblicklich, wenn man ammoniakalische Silberlösung anwendet. Fehling'sche Lösung wird langsam in der Kälte, schnell beim Erwärmen reducirt.

Eine 1procentige Lösung gibt mit der Wismuthprobe keine Reaction, und selbst eine 5procentige Lösung zeigt nur eine undeutliche Reaction, Eisenchlorid gibt die schon erwähnte sehr rasch vorübergehende Blaufärbung, welche noch bei einer Verdünnung von 1 auf 4000 deutlich zu erkennen ist. Beim Kochen mit concentrirter Eisenchloridlösung tritt der Geruch von Chinon auf. Mit Bromwasser ent-

steht keine Fällung, sondern, wie es scheint, völlige Zersetzung. Beim Erwärmen mit verdünnter Salpetersäure tritt gleichfalls unter Entwickelung rother Dämpfe Oxydation ein, ohne dass ein Nitroderivat der Säure erhalten wird.

Mit Millon's Reagens wird die wässerige Lösung der Säure gelb gefärbt, nach kurzer Zeit entsteht in der Kälte ein gelber amorpher Niederschlag, welcher beim Erhitzen sich ziegelroth färbt. Genau dasselbe Verhalten zeigt eine wässerige Lösung von Hydrochinon.

Beim Erhitzen in der Probirröhre sublimirt die zuerst geschmolzene Säure scheinbar unverändert. Wird das Erhitzen in einer weiten Röhre ausgeführt, so dass Luft zutreten kann, so wird das Sublimat in Folge einer geringen Oxydation schön blau gefärbt.

Die weitere Untersuchung der Säure ergab, dass sie einbasisch ist und zwei Phenolhydroxylgruppen enthält. Sie ist nicht identisch mit einer der bis jetzt bekannten 16 einbasischen Säuren von der Formel $C_8H_8O_4$[1]), sondern diejenige bis jetzt nicht bekannte Dioxyphenylessigsäure, welche vom Hydrochinon sich ableitet. Da die Hydrochinoncarbonsäure oder Oxysalicylsäure seit längerer Zeit den Namen Gentisinsäure führt, so kommt unserer Säure nach der von Tiemann für verwandte Stoffe eingeführten Nomenclatur die Bezeichnung Homogentisinsäure zu. Da wir nur einige Wochen lang den die neue Substanz enthaltenden Harn zur Gewinnung der Säure verarbeiten konnten, haben wir, um unser Material zu sparen, zunächst nur solche Versuche angestellt, welche für die Ermittelung der Constitution der Säure von Bedeutung waren.

5. Homogentisinsaures Blei, $(C_8H_7O_4)^2Pb + 3\,H_2O$.

Man erhält das Bleisalz der Säure in farblosen durchsichtigen Prismen und Nadeln von starkem Glanz, wenn man die bis nahe zum Sieden erhitzte wässerige 1 procentige Lösung

---

[1]) Vergl. Beilstein, 2. Aufl., II, S. 1121 u. ff.

der Säure mit Bleiacetat versetzt. Beim Erkalten krystallisirt das Salz fast völlig aus. Es enthält 3 Molecüle Krystallwasser, welche bei Liegen an der Luft nicht, wohl aber im Exsiccator oder beim Erhitzen auf 100° entweichen.

Analysen des trockenen Salzes:

I. 0,3418 gr. Substanz gaben:
0,4430 gr. CO_2 = 35,34 % Kohlenstoff,
0,106 » H_2O = 3,44 » Wasserstoff.

II. 0,3229 gr. Substanz gaben:
0,4155 gr. CO_2 = 35,09 % Kohlenstoff,
0,0893 » H_2O = 3,10 » Wasserstoff.

III. 0,348 gr. Substanz gaben:
0,4511 gr. CO_2 = 35,35 % Kohlenstoff,
0,095 » H_2O = 3,03 » Wasserstoff.

IV. 0,2620 gr. Substanz gaben beim Erhitzen mit conc. Schwefelsäure im Platintiegel 0,146 gr. $PbSO_4$ = 38,03 % Blei

V. 0,951 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0885 gr. = 9,30 % Wasser.

VI. 1,4095 gr. verloren im Vacuum 0,1325 gr. = 9,40 % Wasser.

Zusammenstellung:

		$(C_8H_7O_4)^2Pb$ Berechnet:	Gefunden: I.	II.	III.	IV.
C_{16}	= 192	35,49 %	35,34	35,09	35,35	—
H_{14}	= 14	2,59 »	3,44	3,10	3,03	—
O_8	= 128	23,66 »	—	—	—	—
Pb	= 207	38,26 »	—	—	—	38,03
	541	100,00				

Krystallwasser:

$(C_8H_7O_4)^2Pb + 3H_2O$ Berechnet:	Gefunden: V.	VI.
9,08 %	9,30	9,40.

Das Bleisalz schmilzt bei 214—215° zu einer klaren Flüssigkeit. Es löst sich bei 20° in 675 Theilen Wasser. In Alkohol und in Aether ist es unlöslich.

Wenn man die mit Soda neutralisirte Lösung der Säure mit Bleiacetat fällt, erhält man das Bleisalz von der gleichen Zusammensetzung wie das oben beschriebene.

6. Homogenitinsäureäthylester, $C_8H_7O_4(C_2H_5)$.

Man erhält den Ester, wenn man in die abgekühlte alkoholische Lösung der Säure Salzsäuregas einleitet; nach 24 Stunden wird mit Wasser verdünnt, mit Soda übersättigt und mit Aether ausgeschüttelt. Der syrupöse Rückstand des Aetherauszugs erstarrt beim Erkalten zur Krystallmasse, welche aus heissem Wasser umkrystallisirt wird.

Der Ester bildet farblose, prismatische Krystalle, welche in kaltem Wasser schwer, leichter in heissem Wasser sich lösen, er ist in Weingeist und Aether leicht, schwer in Chloroform und Benzol löslich, und schmilzt bei 119—120°.

Analysen:

I. 0,1692 gr. Substanz gaben:
0,3785 gr. CO_2 = 61,08 % Kohlenstoff,
0,0935 » H_2O = 6,13 » Wasserstoff.

II. 0,1760 gr. Substanz gaben:
0,3940 gr. CO_2 = 61,05 % Kohlenstoff,
0,1020 » H_2O = 6,43 » Wasserstoff.

		$C_8H_7O_4(C_2H_5)$ Berechnet:	Gefunden: I.	Gefunden: II.
C_{10}	= 120	61,22 %	61,05	61,08
H_{12}	= 12	6,12 »	6,43	6,13
O_4	= 64	32,65 »	—	—
	196	99,99		

Der Homogentisinsäureäthylester bildet sich immer, auch wenn die Lösung der Säure in alkoholhaltigem Aether, beim Abdestilliren des Aethers, erhitzt wird. Er ist daher stets in der rohen Säure enthalten; bei der Darstellung des Bleisalzes geht er in das Filtrat vom homogenitinsauren Blei über, welchem er durch Schütteln mit Aether entzogen werden kann. Bei der quantitativen Bestimmung der Säure durch Wägen des Bleisalzes bedingt dieser Umstand einen Verlust, dessen Grösse in weiter unten zu beschreibenden Versuchen ermittelt wurde.

Gegen Reductionsmittel und Alkalien verhält er sich fast genau so wie die Säure selbst; mit Eisenchlorid gibt

er eine augenblicklich wieder verschwindende blau-grüne Färbung.

Als wir auf den Ester zuerst in den von dem homogenitinsauren Blei abfiltrirten Lösungen durch deren stark reducirende Wirkung auf ammoniakalische Silberlösung aufmerksam wurden, glaubten wir zuerst, es liege ein mehrwerthiges Phenol vor, welches neben der Homogenitinsäure durch den Stoffwechsel gebildet worden sei. Die genauere Untersuchung zeigte aber bald die völlige Identität dieses Körpers mit dem aus der reinen Säure gebildeten Ester.

7. Dimethylhomogentisinsäure, $C_8H_6O_4(CH_3)_2$.

3 gr. krystallisirte Homogentisinsäure wurden mit 20 gr. Methylalkohol, in welchem zuvor 3 gr. Aetzkali gelöst waren, und mit 10 gr. Methyljodid in geschlossener Röhre 3 Stunden lang auf 130° erwärmt. Der sauer reagirende Inhalt der Röhre wurde zur Entfernung des überschüssigen Methyljodids und des Methylalkohols und zur Spaltung des gleichzeitig gebildeten Methylesters der Dimethylhomogentisinsäure auf dem Wasserbade mit Aetzkali erwärmt, alsdann mit Wasser verdünnt und mit Schwefelsäure angesäuert. Dabei entstand zuerst eine Trübung, bald darauf schieden sich nadelförmige Krystalle ab, welche mit einem dunkel gefärbten Harz verunreinigt waren. Der Flüssigkeit wird die noch gelöste Säure durch Ausschütteln mit Aether entzogen.

Die so erhaltene Substanz wurde in heissem Wasser gelöst und mit einigen Tropfen Permanganat entfärbt. Beim Erkalten des mit einigen Tropfen Schwefelsäure versetzten Filtrates krystallisirten farblose Nadeln und Blättchen.

Die Dimethylhomogentisinsäure schmilzt bei 124,5°, sie ist in kaltem Wasser schwer, leicht in siedendem Wasser löslich, von Alkohol, Aether, Chloroform wird sie leicht aufgenommen. Ihre wässerige Lösung wird durch Bleiacetat in jeder Verdünnung gefällt, mit Eisenchlorid gibt sie keine Reaction, mit Alkalien wird sie nicht gebräunt, und reducirt weder ammoniakalische Silberlösung, noch Fehling'sche Lösung.

Die Analyse ergab Werthe, welche für die nach der Darstellung zu erwartende Säure, die isomer mit dem Aethylester der Homogentisinsäure ist, gut stimmen:

0,1726 gr. Substanz gaben:

0,3860 gr. CO_2 = 60,99 % Kohlenstoff,
0,0997 » H_2O = 6,41 » Wasserstoff.

			Berechnet für $C_8H_6O_4(C_2H)_2$:	Gefunden:
C_{10}	=	120	61,22 %	60,99 %
H_{12}	=	12	6,12 »	6,41 »
O_4	=	64	32,65 »	—
		196	99,09	

Das Ammoniumsalz der Dimethylhomogentisinsäure krystallisirt aus Wasser in langen spiessigen Krystallen. Seine Lösung gibt mit Bleiacetat einen krystallinischen Niederschlag, mit Kupfersulfat eine hellgrüne, gleichfalls krystallinische Fällung; das Silbersalz ist lichtbeständig und bildet in Wasser unlösliche, sehr feine Nadeln. Die Lösung der Dimethylhomogentisinsäure gibt, im Gegensatze zur Homogentisinsäure, mit Bromwasser eine reichliche amorphe Fällung eines leicht veränderlichen Bromproductes.

Der Methylester der Dimethylhomogentisinsäure wird als Nebenproduct bei der Darstellung der Dimethylhomogentisinsäure erhalten. Er ist in kaltem Wasser fast unlöslich und kann durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser leicht gereinigt werden; er bildet dann fast quadratisch erscheinende, völlig ausgebildete klinorhombische Tafeln, welche bei 45° schmelzen und in Weingeist und in Aether leicht löslich sind.

Analyse:

0,179 gr. Substanz gaben:

0,4099 gr. CO_2 = 62,45 % Kohlenstoff,
0,1068 » H_2O = 6,62 » Wasserstoff.

			Berechnet für $C_6H_3\begin{cases}OCH_3\\OCH_3\\CH_2COO(CH_3)\end{cases}$:	Gefunden:
C_{11}	=	132	62,86	62,45 %
H_{14}	=	14	6,66	6,62 «
O_4	=	64	30,48	—
		210	100,00	

Die Dimethylhomogentisinsäure lässt sich, im Gegensatze zur Homogentisinsäure, äusserst leicht nitriren. Setzt man zu der heissen wässerigen Lösung der Dimethylhomogentisinsäure tropfenweise reine Salpetersäure, so erstarrt die Flüssigkeit bald zu einem Brei sehr langer, glänzender, schwach gelb gefärbter Nadeln einer Mononitrodimethylhomogentisinsäure, welche in kaltem Wasser unlöslich, auch in siedendem Wasser ziemlich schwer löslich ist. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 204°.

Analyse:

0,2068 gr. Substanz gaben 10,5 cbcm. N bei 6° und 738 mm. B. = 0,0126 gr. = 6,08% Stickstoff.

			Berechnet für $C_6H_2 \begin{cases} OCH_3 \\ OCH_3 \\ NO_2 \\ CH_2COOH: \end{cases}$	Gefunden:
C_{10}	=	120	—	—
H_{11}	=	11	—	—
N	=	14	5,81 %	6,08 %
O_6	=	96	—	—
		241		

Durch die bisher mitgetheilten Versuche mit der aus dem Alkaptonharn gewonnenen Säure ist festgestellt, dass dieselbe einbasisch ist und zwei Hydroxylgruppen im Benzolreste enthält.

8. Kalischmelze der Homogentisinsäure.

Die Kalischmelze sollte Aufschluss über die Stellung der Hydroxylgruppen und der Seitenkette geben. Sie wurde zuerst mit dem Bleisalze ausgeführt. Dabei gelang es leicht, die Bildung von Hydrochinon zu constatiren, welches der wässerigen angesäuerten Lösung der Schmelze beim Schütteln mit Aether entzogen wurde. Die gelbe ätherische Lösung wurde zur Abscheidung von Säuren mit verdünnter Sodalösung geschüttelt, und der Aether verdunstet[1]). Der Rück-

[1]) Dabei machte sich ein starker Geruch von Chinon bemerkbar, welcher durch einige Tropfen schwefliger Säure beseitigt wurde.

stand erstarrte zu einer strahligen Krystallmasse, aus welcher durch Umkrystallisiren aus heissem Toluol farblose glänzende kurze Prismen erhalten wurden, welche bei 168° schmolzen. Diese Krystalle lösten sich leicht in Wasser, Alkohol und Aether. Die wässerige Lösung reducirte Silberlösung und Fehling'sche Lösung in der Kälte, durch Alkalien wurde sie braun bis schwarz gefärbt. Mit Eisenchlorid entsteht keine Färbung, beim Erhitzen wird der stechende Geruch von Chinon entwickelt, der nach Erwärmen der Lösung mit einer Spur Chromsäure in unverkennbarer Weise auftritt. Die aus der Kalischmelze gewonnene Substanz zeigt ferner eine Reaction des Hydrochinons, welche von Baumann und Preusse[1]) vor längerer Zeit als eine empfindliche Probe für die Erkennung derselben beschrieben worden ist: Erhitzt man Hydrochinon in der Reagirröhre, so sublimirt es, ohne dass eine Farbenveränderung eintritt; erhitzt man aber eine Spur dieser Substanz in einer weiten Röhre, so dass der Hydrochinondampf einige Zeit mit der Luft in Berührung bleibt, so nimmt das Sublimat eine tief indigoblaue Färbung an, welche beim Hinzubringen von Lösungsmitteln wieder verschwindet. Hydrochinon, welches noch Spuren von Verunreinigungen enthält, insbesondere solches, welches aus Harn dargestellt wurde, zeigt diese Farbenreaction viel deutlicher und reiner als das ganz reine Präparat, mit dem sie indessen auch stets gelingt. Der blaue Farbstoff ist jedenfalls ein Oxydationsproduct und entsteht sofort, wenn man zu dem Hydrochinon vor dem Erhitzen eine Spur Chinon gibt.

Die Ausbeute an Hydrochinon war indessen gering, so zwar, dass nach Anstellung der Identitätsreactionen eine für die Analyse ausreichende Menge von Substanz nicht übrig blieb. Es scheint, dass durch das aus dem Bleisalz bei der Schmelze abgeschiedene Bleioxyd und dessen oxydirende Wirkung die Ausbeute an den Reactionsproducten beeinträchtigt wurde. Es fiel insbesondere auf, dass neben dem Hydrochinon keine aromatische Säure in nennenswerther

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 3, S. 157.

Menge erhalten werden konnte. Desshalb wurde zu einem weiteren Schmelzversuch die durch Verdunsten der Mutterlaugen der reinen Homogentisinsäure gewonnene unreinere Säure verwendet.

4 gr. dieser Säure wurden fein gepulvert in einen Tiegel eingetragen, in welchem 25 gr. Aetzkali mit sehr wenig Wasser geschmolzen waren. Die Temperatur wurde langsam bis auf 350° gesteigert und 5 Minuten lang auf dieser Höhe erhalten. Die erkaltete Schmelze wurde in verdünnter Schwefelsäure gelöst und mit Aether wiederholt ausgeschüttelt. Der ätherischen Lösung wurde dieses Mal durch verdünnte Sodalösung eine Säure entzogen, welche noch ebenso stark reducirende Eigenschaften besass als die Homogentisinsäure. Da ätherischen Lösungen von Hydrochinon letzteres beim Schütteln mit Sodalösung auch theilweise entzogen wird, wurde die abgetrennte alkalische Lösung, welche dunkelbraun gefärbt war, wiederholt mit Aether extrahirt, so lange der Aetherrückstand noch Silberlösung reducirte. Erst jetzt wurde die alkalische Flüssigkeit wieder mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether auf's Neue ausgezogen. Beim Verdunsten dieses Aetherextractes blieb ein bräunlich gefärbter Syrup, welcher krystallinisch erstarrte. Er bestand aus etwa 1 gr. einer in Wasser leicht löslichen Säure, welche mit Eisenchlorid eine intensiv blaue beständige Färbung gab. Die wässerige Lösung gab mit Bleiacetat eine geringe Fällung, welche neben Verunreinigungen eine Spur unveränderter Homogentisinsäure enthielt. Die vom Bleiniederschlag abfiltrirte Lösung wurde mit Schwefelsäure angesäuert, und wieder mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Aethers blieb eine nur wenig gefärbte Säure zurück, welche aus siedendem Toluol umkrystallisirt wurde. Dabei wurde ca. 1 Decigramm farbloser kurzer Prismen erhalten, welche bei 196—198° schmolzen, und alle Eigenschaften der Gentisinsäure zeigten. Der Schmelzpunkt der Gentisinsäure liegt nach Goldberg[1]) bei 196—197°, nach Müller[2]) bei 199—200°. Die Lösung

[1]) Journ. f. pr. Chem. [2], Bd. 19, S. 368.

[2]) Ann. d. Chem., Bd. 220, S. 124.

der reinen Säure wurde durch Bleiacetat nicht mehr gefällt, mit wenig Eisenchlorid entstand eine tiefblaue, sehr beständige Färbung, beim Erhitzen mit überschüssigem Eisenchlorid wurde Chinon gebildet, alkalische Silberlösung wurde sofort in der Kälte reducirt. Alkalien färbten die Lösung der Säure schwarzbraun.

Danach kann es keinem Zweifel unterliegen, dass Gentisinsäure vorlag. Ausser dieser Säure und Hydrochinon, welches auch bei der zweiten Schmelze gewonnen wurde, konnten weitere Producte in letzterer nicht nachgewiesen werden.

Eine geringe Menge des noch nicht völlig gereinigten Hydrochinons wurde in verdünnter wässeriger Lösung in der von Hinsberg und v. Udránszky[1]) angegebenen Weise benzoylirt. Das hierbei gebildete Dibenzoylhydrochinon wurde durch Umkrystallisiren aus heissem Weingeist leicht gereinigt und schmolz, in Uebereinstimmung mit der Beobachtung Döbner's[2]), bei 199°.

9. Lacton der Homogentisinsäure,

$$C_6H_3 \begin{cases} OH \\ O \\ CH_2 \end{cases} > CO.$$

Erhitzt man die Homogentisinsäure kurze Zeit über ihren Schmelzpunkt, so verwandelt sie sich vollständig in ihr Lacton, welches zum Theil sublimirt. Das Lacton ist in kaltem Wasser sehr schwer löslich, in siedendem Wasser löst es sich ziemlich leicht; es ist in Weingeist und in Aether schwerer löslich als die Säure, in siedendem Chloroform und in Benzol löst es sich schwer, aber merklich leichter als die Säure, welche in Chloroform und Benzol fast ganz unlöslich ist. Das Lacton kann aus siedendem Wasser umkrystallisirt werden, ohne dass die geringste Rückverwandlung in die

---

1) Ann. d. Chem., Bd. 254, S. 253.

2) Ebenda, Bd. 210, S. 265.

Säure statt hat. Man erhält es auf diesem Wege in kurzen prismatischen Krystallen, welche bei 191° schmelzen.

Analyse:

0,169 gr. gaben:

0,398 gr. CO_2 = 64,22 % Kohlenstoff und
0.0643 » H_2O = 4,22 » Wasserstoff.

			Berechnet für $C_8H_6O_3$:	Gefunden:
C_8	=	96	64,0 %	64,22 %
H_6	=	6	4,0 »	4,22 »
O_3	=	48	32,0 »	—
		150	100,0	

Die wässerige Lösung des Lactons wird durch Alkalien sofort in das Salz der Säure verwandelt.

Mit Millon's Reagens entsteht in der Kälte ein weisser Niederschlag, beim gelinden Erwärmen färbt sich derselbe und die Flüssigkeit roth (Plugge's Reaction einwerthiger Phenole).

Mit Bromwasser gibt das Lacton einen gelb gefärbten Niederschlag einer unlöslichen, aber leicht veränderlichen Bromverbindung (Unterschied von der Säure).

Die wässerige Lösung des Lactons gibt mit Silbernitrat auch bei längerem Stehen keine Reduction. Diese tritt sofort ein, wenn eine Spur Ammoniak, welches das Lacton in die Säure zurückverwandelt, zugesetzt wird.

Die weingeistige Lösung des Lactons gibt mit Eisenchlorid eine undeutliche dunkle Färbung.

10. Constitution der Homogentisinsäure.

Durch das Ergebniss der Kalischmelze wird die Frage nach der Constitution der aus dem Alkaptonharn gewonnenen Säure aufgeklärt. Dieselbe stellt einen Abkömmling des Hydrochinons dar, in welchem 1 Wasserstoffatom durch den Rest der Essigsäure ersetzt ist: $C_6H_3(OH)^2CH_2COOH$, oder eine im Benzolkern methylirte Gentisinsäure: $C_6H_2\begin{matrix}(OH)^2\\ CH_3\\ COOH\end{matrix}$. In letzterem Falle wären drei Möglichkeiten durch die verschiedene

Art der Stellung der Methylgruppe gegeben, während von der zuerst genannten Constitution nur ein Körper existiren kann:

$$C_6H_3(OH)(OH)(CH_2COOH)$$

Mehrere der im Früheren mitgetheilten Beobachtungen sprechen aber unzweideutig dafür, dass unserer Säure die zuletzt genannte Constitution, durch welche sie als «Homogentisinsäure» bezeichnet wird, zukommt.

Diese Gründe sind folgende:

Die Orthooxycarbonsäuren des Benzols besitzen die Eigenschaft, ein inneres Anhydrid (Lacton) zu bilden, nur dann, wenn der Rest $CH_2 \cdot COOH$ oder $CH_2 \cdot CH_2COOH$ in der Orthostellung zur OH-Gruppe sich befindet, nicht aber wenn die Carboxylgruppe neben der HO-Gruppe steht. Da diese Eigenschaft aber unserer Säure zukommt, kann sie nicht eine im Benzolkern methylirte Gentisinsäure sein.

Die Gentisinsäure zerfällt beim Erhitzen leicht in Kohlensäure und Hydrochinon. Dagegen kann unsere Säure (wegen der Lactonbildung) auf hohe Temperatur erhitzt werden, ohne dass Kohlensäureabspaltung, wobei Hydrotoluchinon entstehen müsste, eintritt.

Endlich würde eine im Kern methylirte Gentisinsäure bei vorsichtigem Schmelzen mit Aetzkali eine Hydrochinondicarbonsäure ergeben, von welcher bei unseren Schmelzversuchen jedenfalls Nichts gebildet worden ist. Das negative Resultat unzerer Versuche in dieser Richtung ist nicht ohne Bedeutung, wenn man sich erinnert, dass z. B. die p-Dioxyterephtalsäure bei Temperaturen von 300° von schmelzendem Aetzkali noch kaum angegriffen wird.

Es hätte keine Schwierigkeit geboten, die von uns angetretene Beweisführung der Constitution der Homogentisinsäure noch weiter zu verfolgen, wenn der aus dem Harn dargestellte Vorrath der Säure nicht noch für mancherlei andere Versuche in Anspruch genommen worden wäre. Inzwischen

hat Herr Dr. Tahara es unternommen, die Homogentisinsäure synthetisch aus dem Gentisinaldehyd darzustellen, wodurch auf anderem Wege eine Bestätigung der von uns aufgestellten Constitutionsformel der Homogentisinsäure zu erwarten ist.

Durch die bisher beschriebenen Versuche ist festgestellt, dass in der von uns aus einem Alkaptonharn dargestellten Homogentisinsäure ein von der Uroleucinsäure Kirk's verschiedener Körper vorliegt. Wir haben uns in der Folge bemüht, festzustellen, ob neben der von uns gefundenen Säure nicht kleinere Mengen von Uroleucinsäure in dem Alkaptonharn enthalten seien. Da letztere aus verdünnten Lösungen durch Bleiacetat nicht gefällt wird, wäre ihre Trennung von der Homogentisinsäure nicht schwierig gewesen. Allein wir haben niemals auch nur Spuren der von Kirk entdeckten Säure nachweisen können.

Vergleicht man unsere Resultate mit denen früherer Beobachter des Alkaptonharns, so zeigt sich in einigen Punkten eine grosse Uebereinstimmung der Eigenschaften der Homogentisinsäure mit den mehr oder weniger eingehenden Beschreibungen von Alkaptonharn, so dass nicht zweifelhaft sein kann, dass der von früheren Forschern untersuchte Alkaptonharn in gewissen Fällen ebenfalls Homogentisinsäure enthalten hat. Insbesondere wird die Vermuthung nahe gelegt, dass Marshall's Glycosursäure noch nicht ganz reine Homogentisinsäure gewesen sei, wenn man die Angaben Marshall's unseren Beobachtungen über die Homogentisinsäure an die Seite stellt. Während Huppert diese Säure als identisch mit der Uroleucinsäure ansieht, möchten wir sie für ein Gemenge von Uroleucinsäure mit Homogentisinsäure halten. Diese Annahme würde die Angaben Marshall's in guten Einklang mit den Beobachtungen Kirk's und mit unseren Versuchen bringen:

Die Eisenchloridreaction der Glycosursäure beschreibt Marshall ganz so, wie sie bei der Homogentisinsäure, nicht aber bei der Uroleucinsäure, eintritt.

Der Schmelzpunkt der Glycosursäure (140°) liegt in der Mitte zwischen dem der Uroleucinsäure (133°) und der Homogentisinsäure (147°).

Der Schmelzpunkt des Bleisalzes der Glycosursäure wurde bei 209,5° beobachtet, während der unseres Bleisalzes bei 214—215° liegt.

Der Bleigehalt des wasserhaltigen Bleisalzes wurde von Marshall zu 33,58% ermittelt. Unser Bleisalz $(C_8H_7O_4)^2Pb + 3H_2O$ enthält 34,79% im wasserhaltigen Zustand, während allerdings die Annahme von einem Molecul Wasser in dem uroleucinsauren Blei eine dem gefundenen Werthe näher liegende Zahl (33,43%) ergeben würde.

Auch die von Barton Brune[1]) geschilderte Eisenchloridreaction bei der von ihm aus Alkaptonharn abgeschiedenen unreinen Säure stimmt mit dem Verhalten der Homogentisinsäure überein, und Barton Brune hatte jedenfalls Recht, seine Säure für verschieden von der Protocatechusäure zu erklären. Da er seine Säure nicht genauer untersucht hat, fehlt die Möglichkeit einer weiteren Vergleichung derselben mit der Homogentisinsäure.

Aus dem Vorstehenden geht jedenfalls zur Genüge hervor, dass das Auftreten der Homogentisinsäure im Alkaptonharn nicht etwa ein von uns beobachtetes Unicum darstellt, sondern dass bei der Alkaptonurie als Ursache der eigenthümlichen Eigenschaften des Harns entweder die Uroleucinsäure oder die Homogentisinsäure oder das Auftreten beider Säuren zugleich anzusehen ist.

Ob bei den früheren Beobachtungen, bei welchen die Alkaptonurie auf eine abnorm vermehrte Ausscheidung von Brenzcatechin zurückgeführt wurde, es sich immer um diese Substanz handelte, oder ob dabei auch die zuletzt genannten Säuren in Frage kommen konnten, muss dahin gestellt bleiben. Auf Grund der vorliegenden Angaben halten wir uns nicht für berechtigt, in diesem Sinne eine Kritik an denselben zu üben, oder sie in Zweifel zu ziehen, um so weniger als der Eine von uns selbst einen solchen Fall beobachtet hat, wo im Harn eines gesunden Knaben — allerdings ganz vorübergehend — erhebliche Mengen von Brenzcatechin auftraten[2]).

---

[1]) Boston Med. Journ., 1886, Bd. 115, S. 621 und Bd. 116, S. 83.

[2]) E. Baumann, Pflüger's Archiv, Bd. 12, S. 66 und 67.

Unverkennbar sind die Beziehungen und Aehnlichkeiten der Uroleucinsäure und der Homogentisinsäure. Wenn Huppert auf Grund einer Vergleichung der Uroleucinsäure und der Gallussäure vermuthete, dass erstere eine Trioxyphenylpropionsäure sei, sehen wir uns veranlasst, dieser Ansicht Huppert's vollkommen uns anzuschliessen auf Grund der Aehnlichkeit der Uroleucinsäure und der Homogentisinsäure.

Beide Säuren stehen nach dieser Auffassung zu einander in demselben Verhältnisse wie zwei andere aromatische Säuren, welche unter sehr ähnlichen Bedingungen aus dem Eiweiss sich bilden können, die Phenylessigsäure und die Oxyphenylpropionsäure (Hydroparacumarsäure), wie folgende Formeln erkennen lassen:

$$C_6H_4 \begin{matrix} OH \\ CH_2CH_2COOH \end{matrix}$$

Oxyphenylpropionsäure
(Hydroparacumarsäure).

$$C_6H_5 \cdot CH_2COOH$$

Phenylessigsäure.

$$C_6H_2 \begin{matrix} OH \\ OH \\ OH \\ CH_2CH_2COOH \end{matrix}$$

Uroleucinsäure
(Trioxypenylpropionsäure).

$$C_6H_3 \begin{matrix} OH \\ OH \\ CH_2COOH \end{matrix}$$

Dioxyphenylessigsäure
(Homogentisinsäure).

II.

Bedingungen und Ursache der Alkaptonurie.

1. Die Aetherschwefelsäuren des Alkaptonharns.

Nachdem, wie aus dem ersten Theil dieser Arbeit hervorgeht, festgestellt war, dass in dem von uns beobachteten Alkaptonharn die Homogentisinsäure derjenige Körper ist, welcher das abnorme Verhalten des Harns bedingte, war es zunächst von Wichtigkeit, festzustellen, ob durch diese Säure die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Harn verändert wird oder nicht. Die nahen Beziehungen der Homogentisinsäure zum Hydrochinon, welches, wenn es in den Organismus gelangt ist, in Form von Hydrochinonschwefelsäure aus-

geschieden wird, liessen eine solche Möglichkeit nahe gerückt erscheinen.

Indessen ergaben zu verschiedenen Zeiten wiederholt ausgeführte Aetherschwefelsäurebestimmungen, dass deren Mengen in dem Alkaptonharn nicht im Geringsten von der normalen Ausscheidung abwichen.

Folgende Tabelle enthält die darauf bezüglichen Zahlenverhältnisse:

Harn vom:	Menge in cbcm.	Spec. Gew.	H_2SO_4 in 100 cbcm. Harn		$\frac{A}{B}$
			aus Sulfaten A.	aus Aetherschwefelsäuren B.	
12. Juni	1750	1,010	0,0681	0,0067	10,1
15. »	2130	1,010	0,0585	0,0059	9,9
22. »	2300	1,012	0,0938	0,0071	13,2
1. Juli	2080	1,012	0,0854	0,0079	10,6
3. »	2390	1,0115	0,0675	0,0059	11,6
7. » [1]	1900	1,014	0,1232	0,0084	14,6
30. » [1]	800	1,016	0,1581	0,01178	13,4

Mit dem Ergebniss dieser Bestimmungen steht vollkommen im Einklange, was früher bei der allgemeinen Untersuchung des Harns (S. 238) über die Ausscheidung der normalen Fäulnissproducte im Harn, welche gleichfalls nicht vermehrt waren, gesagt wurde.

2. Quantitative Bestimmung der Homogentisinsäure im Harn.

Bevor man der Frage nach der Entstehung oder der Abstammung der Homogentisinsäure im Organismus näher treten konnte, war es erforderlich, die täglichen Mengen der Ausscheidung der Säure kennen zu lernen, d. h. eine Methode aufzufinden, durch welche dieselbe ermittelt werden konnte. Dabei kam es nicht sowohl darauf an, die absolute Grösse derselben ganz genau festzustellen, als Schwankungen der-

[1]) Die gesteigerte Ausscheidung der Schwefelsäure ist durch die an diesen Tagen vorwiegend aus Fleisch bestehende Nahrung bedingt.

selben, namentlich wenn sie erheblich wurden, sicher beobachten zu können.

Für eine solche Bestimmungsmethode schien sich am besten die reducirende Wirkung der Säure auf ammoniakalische Silberlösung zu eignen, weil diese Reduction schon in der Kälte eintritt und in wenigen Minuten beendigt ist. Der Schwierigkeit, dass das ausgeschiedene Silber dabei so fein vertheilt ist, dass man es nicht abfiltriren kann, wurde dadurch begegnet, dass man nach Zusatz der ammoniakalischen Silberlösung, sobald das Ende der Oxydationswirkung eingetreten war, in der Flüssigkeit einen Niederschlag von Calciumcarbonat erzeugte, welcher beim Umschütteln das metallische Silber so einhüllte, dass man sofort ein klares, wenn auch gefärbtes Filtrat erhielt. Dieses Filtrat gab entweder mit Salzsäure einen Niederschlag von Chlorsilber, dann war die Silberlösung im Ueberschuss verwendet worden, oder es gab auf weiteren Zusatz von Silberlösung erneute Reduction, dann war die zugesetzte Menge der Silberlösung ungenügend, oder beide Reactionen blieben aus, dann war eben die zur Oxydation erforderliche Quantität Silberlösung zur Verwendung gekommen, welche in einem bestimmten, gleichbleibenden Verhältniss zu der oxydirten Substanz stehen muss. Bei der Ausführung dieser Bestimmung kam es darauf an, diesen letztgenannten Punkt, als die Endreaction, ausfindig zu machen. Dazu ist eine 4—5malige Wiederholung des Versuchs nöthig, welche indessen in weniger als einer Viertelstunde, wenn man gleichzeitig zwei Proben anstellt, ausgeführt werden kann. Zu einer Bestimmung dienten immer 10 cbcm. Harn beziehungsweise Homogentisinsäurelösung. Die Ausführung geschah in folgender Weise:

10 cbcm. des filtrirten Harns wurden mit 10 cbcm. concentrirtem Ammoniak versetzt, ohne Verzug lässt man zu der Mischung einige Cubikcentimeter von $^1/_{10}$-Normalsilberlösung zufliessen. Nach 5 Minuten gibt man 5 Tropfen einer mässig concentrirten Chlorcalciumlösung und 10 Tropfen Ammoniumcarbonat hinzu, schüttelt um, filtrirt sofort ab und prüft das Filtrat mit Silberlösung; tritt keine weitere Reduction ein,

so versetzt man eine zweite Probe des Filtrats mit Salzsäure, wird dabei Chlorsilber abgeschieden, so wiederholt man den Versuch mit einer kleineren Menge von Silber unter genau den gleichen Bedingungen. Im umgekehrten Falle, wenn das Filtrat vom Silberniederschlage noch reducirt, wird beim zweiten Versuche eine etwas grössere Menge Silberlösung verwendet, bis der Punkt erreicht ist, wo das Filtrat des Silberniederschlages keine der beiden Reactionen mehr zeigt.

Die Methode hat sich als bequem und sicher bei einer grossen Zahl von Bestimmungen bewährt. Sie dürfte sich auch für die Ermittelung anderer leicht oxydabler Stoffe gut eignen. Die Resultate sind auch bei Lösungen von verschiedener Concentration constant. Wenn mehr als 10 cbcm. $^1/_{10}$-Normalsilberlösung auf 10 cbcm. Harn oder Homogentisinsäurelösung verbraucht wurden, wurden statt 10 cbcm. 20 cbcm. Ammoniak verwendet.

Die Controlbestimmungen ergaben folgende Resultate:

1. Für 10 cbcm. einer 0,2procentigen Lösung der wasserfreien Homogentisinsäure wurden nach 5 Minuten langem Stehen 4,75 cbcm. der $^1/_{10}$-Normalsilberlösung, entsprechend 0,0513 gr. Silber verbraucht. Liess man die Mischung $^1/_2$ Stunde stehen, so waren 5 cbcm. der Silberlösung, = 0,054 gr. Silber, erforderlich.

2. Zur Oxydation einer 1procentigen Lösung der wasserfreien Säure waren für 10 cbcm. der Lösung 24 cbcm. der Silberlösung = 0,259 gr. Silber nothwendig (statt 10 cbcm. Ammoniak wurden 20 cbcm. in diesem Falle verwendet).

3. 10 cbcm. einer 0,2procentigen Lösung der wasserfreien Homogentisinsäure in normalem Harn reducirten nach 5 Minuten 4,9 gr. Silberlösung = 0,053 gr. Silber.

Somit ist zur Oxydation von 1 gr. wasserfreier Homogentisinsäure eine Quantität ammoniakalischer Silberlösung erforderlich, welche ziemlich genau 2,60 bis 2,65 gr. Silber entspricht.

Die Untersuchung des Harns mit der geschilderten Methode ergab an einer Reihe von Tagen, während der Kranke die gewöhnliche Spitalkost erhielt, folgende Resultate:

Datum.	Harnmenge in cbcm.	Spec. Gew.	Reduction	
			in cbcm. 1/10-normaler Silberlösung für 10 cbcm Harn.	in gr. Silber für die Gesammtmenge des Harns von 24 Stunden.
11. Juni	1750	1,010	6,5	12,28
12. »	1750	1,010	4,5	8,50
13. »	1880	1,010	4,5	9,13
14. »	2100	1,010	5,5	12,47
15. »	2130	1,010	5,0	11,50
16. »	1860	1,012	7,5	15,06
23. »	2080	1,012	7,0	17,72
24. »	2150	1,011	6,0	13,93
29. »	1760	1,012	5,5	10,45
30. »	1960	1,012	6,5	11,64
1. Juli	2080	1,012	6,0	14,60
2. »	2170	1,012	6,0	13,06
3. »	2390	1,0115	6,0	15,48
4. »	2370	1,012	5,5	14,07
Mittel	2030	—	5,8	12,7

Wenn die reducirende Substanz des Harns ausschliesslich Homogentisinsäure ist, so würde sich auf Grund des früher ermittelten Reductionsverhältnisses der reinen Säure eine durchschnittliche 24stündige Ausscheidung von 4,0 gr. Homogentisinsäure berechnen. Bei einer mittleren Harnproduction von 2030 cbcm. in 24 Stunden würde danach der Harn selbst einen Gehalt von ungefähr 0,226 % Homogentisinsäure zeigen. Kirk[1]) schätzt in einem von ihm untersuchten Alkaptonharn den Gehalt an Uroleucinsäure zu etwa 0,2 %.

Dafür, dass die reducirende Substanz unseres Alkaptonharns lediglich Homogentisinsäure war, spricht in erster Linie der Umstand, dass es nicht gelungen ist, trotz vieler darauf gerichteter Bemühungen, die Gegenwart irgend eines anderen reducirenden Stoffes ausser der genannten Säure im Harn nachzuweisen.

[1]) L. c.

Sehr wesentlich sprechen für diese Annahme aber ausserdem noch folgende Erfahrungen:

Setzt man zu normalem Harn so viel Homogentisinsäure, dass eine 0,1 procentige Lösung entsteht, und verarbeitet $^1/_2$ Liter eines solchen Harns, welcher somit 0,5 gr. Homogentisinsäure enthält, zur Darstellung des Bleisalzes in der früher beschriebenen Weise, so erhält man von letzterem gar nichts oder keine nennenswerthe Menge[1]).

Als dagegen $^1/_4$ Liter eines Harns, in welchem 1 gr. Homogentisinsäure gelöst war, in gleicher Weise verarbeitet wurde, erhielten wir 1,169 gr. homogentisinsaures Blei, während die theoretische Ausbeute 1,618 gr. betragen haben würde. In diesem Falle wurden also 72 % der dem Harn zugesetzten Säure wieder gewonnen.

Nach diesen Ermittelungen erscheint die Annahme berechtigt, dass bei der Verarbeitung des Alkaptonharns nach der von uns geschilderten Methode nur etwa der 0,1 % überschiessende Gehalt des Harns an Homogentisinsäure wirklich gewonnen wird, d. h. dass auf das Liter verarbeiteten Harns ungefähr 1 gr. Homogentisinsäure verloren geht. Diese Schätzungen machen natürlich keinen Anspruch auf grosse Genauigkeit, stehen aber in gutem Einklange mit den durchschnittlich aus dem Harn gewonnenen Mengen von Homogentisinsäure, welche 2 bis 2,5 gr. der rohen Säure aus der Tagesquantität des Harns betragen hat.

Verluste bei der Abscheidung der Säure aus dem Harn werden bedingt: 1. dadurch, dass eine geringe Menge der Säure beim Ausschütteln mit Aether in dem Harn zurückbleibt, 2. durch eine geringe Oxydation der Säure bei der Verarbeitung, durch welche der hierbei beobachtete Chinongeruch bedingt ist, 3. durch die Bildung von Homogentisinsäureester, welcher durch Bleiacetat nicht gefällt wird, endlich 4. durch die Löslichkeit des homogentisinsauren Bleis in überschüssigem Bleiacetat.

Mit dem oben ausgesprochenen Schlusse, dass bei der Verarbeitung des Tagesharns regelmässig 2 bis 2,5 gr. Homo-

---

[1]) Zur Fällung des Bleisalzes wurde bei diesem und beim folgenden Versuche nur je 1 gr. Bleiacetat verwendet.

gentisinsäure, d. i. 3,5 bis 4 gr. Bleisalz verloren gingen, steht in gutem Einklange die Wahrnehmung, dass bei einer erheblichen Steigerung der Homogentisinsäure im Harn das Plus an Säure bei der Darstellung des Bleisalzes fast unverkürzt gewonnen wurde. Ein solcher Fall wird weiter unter beschrieben werden.

3. Die Abstammung der Homogentisinsäure des Alkaptonharns.

Die bis jetzt im Harn von Menschen und Thieren gefundenen aromatischen Verbindungen sind mit Ausnahme des Brenzcatechins sämmtlich als Umwandlungsproducte des Eiweisses nachgewiesen worden.

Am klarsten sind die Verhältnisse bezüglich der Entstehung der flüchtigen Phenole (Phenol und p-Kresol) und der aromatischen Oxysäuren ermittelt, welche die Producte der im Darm erfolgenden Fäulniss des Tyrosins darstellen. Auch bei den pflanzenfressenden Thieren, welche zum Theil grosse Mengen von Phenolen an Schwefelsäure gebunden im Harn ausscheiden, kann die Entstehung dieser Stoffe nur auf die Fäulniss des Tyrosins im Verdauungstractus zurückgeführt werden. Denn man kennt keinerlei andere Stoffe der Pflanzennahrung ausser dem Tyrosin, welche bei der Fäulniss flüchtige Phenole bilden. Der stärkste Beweis dafür, dass die genannten Stoffe immer aus dem Tyrosin, d. i. dem Eiweiss abstammen, besteht aber in dem Umstande, dass die flüchtigen Phenole aus dem Pferdeharn[1]) (welcher sie am reichlichsten liefert) dasselbe relative Verhältniss ihrer einzelnen Bestandtheile, d. h. von Phenol und p-Kresol zeigen, wie die flüchtigen Phenole aus der Fäulniss von Eiweiss[2]), von Tyrosin[3]) (bei Luftabschluss) und aus Menschenharn[4]).

Mit gleicher Sicherheit ist die Entstehung der Hippursäure bei ausschliesslicher Fleischnahrung auf die Eiweissfäulniss im Darm zurückgeführt[5]). Sie entsteht aus der bei

[1]) E. Baumann, Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. 9, S. 1389.
[2]) E. Baumann u. Brieger, diese Zeitschr., Bd. 3. S. 149.
[3]) Weyl, diese Zeitschr., Bd. 3, S. 312; E. Baumann, Bd. 4, S. 315.
[4]) Brieger diese Zeitschr., Bd. 4, S. 404.
[5]) Baumann, diese Zeitschr., Bd. 10, S. 131.

der Fäulniss von Eiweiss auftretenden Phenylpropionsäure[1]). Die neben der Hippursäure im Harn vorkommende Phenacetursäure[2]) wird aus der Phenylessigsäure gebildet, welche unter den Fäulnissproducten vom Eiweiss sich findet. Ein wahrscheinlich immer geringer Theil der Hippursäure des Pflanzenfresserharns kann auch aus aromatischen Verbindungen, welche in der Pflanzennahrung als solche enthalten sind, gebildet sein, wofür Versuche von Meissner und Shepard, Löw, Stadelmann und Anderen sprechen[3]).

Die Abstammung der Indoxylverbindungen des Harns und der aus Skatol und verwandten Stoffen gebildeten Ausscheidungsproducte ist gleichfalls auf die Eiweissfäulniss zurückzuführen, wenn auch der Verlauf des Processes, durch welchen diese Körper entstehen, noch nicht aufgeklärt ist.

Alle genannten Verbindungen der Benzolreihe finden sich im Harn der Thiere nur so lange, als Fäulnissprocesse im Darm bestehen. Werden letztere unterdrückt, so hört die Ausscheidung der aromatischen Verbindungen im Harn auf[4]) (bis auf Spuren aromatischer Oxysäuren, deren Bildung aus dem Tyrosin übrigens auch immer nur durch Spaltpilze erfolgt).

Neuerdings hat Haagen[5]) im Gegensatz zu früheren Beobachtungen Baumann's[4]) gefunden, dass auch die Kynurensäureproduction der Hunde, wenigstens in einem gewissen Grade, abhängig ist von der Darmfäulniss.

Aus Verbindungen, welche keinen Benzolkern enthalten, entstehen im thierischen Organismus niemals aromatische Verbindungen, während diese Körper in grösster Zahl und Mannigfaltigkeit in der Pflanze aus Verbindungen der Sumpfgasreihe gebildet werden. Aus diesem Grunde kann man die Entstehung der aromatischen Verbindungen im thierischen Organismus genauer und weiter verfolgen, als dieses bezüglich der Bildung dieser Stoffe in der Pflanze zur Zeit möglich ist.

---

[1]) E. u. H. Salkowski, D. Chem. Ges., Bd. 12, S. 648.

[2]) E. Salkowski, diese Zeitschr., Bd. 9, S. 229 u. 501; Bd. 7, S. 162.

[3]) Vergl. Salkowski u. Leube, Lehre vom Harn, 1882, S. 131 u. ff.

[4]) E. Baumann, diese Zeitschr., Bd. 10, S. 123 ff.

[5]) Centralbl. med. Wissensch., 1889, S. 214.

Diese Schlüsse[1]), welche der Eine von uns vor längerer Zeit ausgesprochen hat, erfahren eine nicht unwesentliche Bestätigung durch den Nachweis der Abstammung der Homogentisinsäure des Alkaptonharns. Dass die Quelle der letzteren nicht in specifischen Bestandtheilen der Pflanzennahrung zu suchen sei, war schon nach den ersten einleitenden Versuchen klar. Da aromatische Verbindungen im Thierkörper aus Kohlenhydraten und Fetten niemals gebildet werden, konnte nur das Eiweiss des Körpers oder der Nahrung die Muttersubstanz der Homogentisinsäure sein. Aber nur die im Eiweissmolecul enthaltenen Atomgruppen, in welchen Benzolreste existiren, konnten nach dem früher Gesagten für die Bildung der Homogentisinsäure in Betracht kommen. Man kennt bis jetzt nur zwei aromatische Verbindungen, welche bei der Spaltung des Eiweissmoleculs durch Säuren oder Alkalien oder lösliche Fermente regelmässig auftreten: das Tyrosin (α-Amidoparoxyphenylpropionsäure) und die α-Amidophenylpropionsäure.

Uns standen für Stoffwechselversuche ausreichende Mengen nur von dem erstgenannten Körper, dem Tyrosin, zur Verfügung.

Die damit angestellten Versuche ergaben nicht nur, dass das Tyrosin die Substanz ist, aus welcher im Organismus unseres Patienten die Homogentisinsäure gebildet wird, sondern dass das demselben zugeführte Tyrosin nahezu vollständig in diese Säure verwandelt wird.

Der Versuch mit der Tyrosineingabe wurde 3mal mit je 10–12,5 gr. ausgeführt, die beiden ersten Male zur Zeit, während der Patient die gewöhnliche Spitalkost erhielt, das dritte Mal bei gleichzeitiger Verabreichung von vorwiegender Fleischnahrung.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Bei den beiden ersten Tyrosinversuchen wurden Aetherschwefelsäurebestimmungen ausgeführt, deren Resultate in der Tabelle verzeichnet sind. Bei einem Versuche wurde die Reductionswirkung des Harns durch die Sauerstoffabsorption bei Gegenwart von Aetzkali ermittelt. Die Harnperiode begann je um 8 Uhr Morgens:

---

[1]) E. Baumann, diese Zeitschr., Bd. 10, S. 125.

Datum.	Harnmenge. cbcm.	Spec. Gew.	Reduction, gerechnet		Schwefelsäure aus 100 Harn.			Absorption des Sauerstoffs bei gewöhnlicher Temperatur durch den Harn.	Bemerkungen.
			in cbcm. $^1/_{10}$-Normal-Silberlösung für 10 cbcm. Harn.	in gr. Silber für die gesammte Harnmenge.	A. Sulfate.	B. Aetherschwefelsäure.	$\frac{A}{B}$		
15. VI.	2130	1,010	5,0	11,502	0,0585	0,0059	9,9	—	
16. »	1860	1,012	7,5	15,066	—	—	—	—	
17. »	2530	1,011	**11**	**30,056**	0,0589	0,0088	6,6	—	10 gr. Tyrosin im Laufe des Vormittags.
18. »	2300	1,011	5,5	13,662	—	—	—	—	
19. »	2010	1,011	6,5	14,110	0,0778	0,00336	23,1	25 cbcm. mit 12 cbcm. KOH absorbiren 14 cbcm. Sauerstoff.	
20. »	2180	1,011	**16**	**37,670**	0,0892	0,0092	9,6	25 cbcm. + 12 cbcm. Kalilauge absorbiren 33 cbcm. Sauerstoff.	11,5 gr. Tyrosin von 10 bis 4 Uhr.
21. »	2000	1,011	8,5	18,360	0,0925	0,0084	11	25 cbcm. absorbiren 19 cbcm. Sauerstoff.	
22. »	2300	1,010	6,5	16,146	0,0938	0,0071	13	—	
13. VII.	1720	1,0135	7,5	13,920	—	—	—	—	Vom 13. ab Fleischdiät.
14. »	2100	1,0125	7	15,876	—	—	—	—	
15. »	1800	1,016	**21,5**	**41,796**	—	—	—	—	12,5 gr. Tyrosin im Laufe des Nachmittags.
16. »	1350	1,0155	12,5	18,225	—	—	—	—	
17. »	1130	1,0185	14,5	17,698	—	—	—	—	

Nach diesen Bestimmungen musste es sich fragen, ob die Zunahme der Reduction des Harns durch eine vermehrte Ausscheidung der Homogentisinsäure bedingt sei, oder ob nach der Tyrosineingabe neben dieser Säure noch eine andere reducirende Substanz im Harn enthalten sei.

Die Verarbeitung des Harns an den beiden Tyrosintagen ergab eine sehr vermehrte Ausbeute an dem Bleisalze der Homogentisinsäure. In der Folge wurden die einzelnen Darstellungen des Bleisalzes in fortlaufender Reihe gewogen. Es zeigte sich, dass die nach der dritten Tyrosineingabe erzielte Menge dieses Salzes um ca. 10 gr. mehr betrug, als an den dem Versuch vorhergehenden Tagen, ferner dass die an den Tyrosintagen gewonnene Homogentisinsäure keinerlei Beimengungen anderer Stoffe enthielt. Die Säure war an diesen Tagen vielmehr so rein, dass sie schon aus dem Aetherauszuge des Harns nach Verdunsten des Aethers krystallisirte. Das in grosser Menge an den Tyrosintagen gewonnene Bleisalz zeigte den Schmelzpunkt (214°) und alle Eigenschaften des homogentisinsauren Bleis.

Vor und nach dem dritten Tyrosintage wurden die je aus dem Tagesharn erzielten Quantitäten des fast ganz reinen Bleisalzes der Homogentisinsäure gewogen. Dass hierbei erhebliche Verluste nicht zu vermeiden sind, ist früher erörtert worden. Die Annahme, dass diese Verluste annähernd constant bleiben, ist durch unsere Versuche nur innerhalb ziemlich weiter Grenzen bestätigt worden. In der folgenden Tabelle sind die Reductionswerthe und die Ausbeuten an homogentisinsaurem Blei neben einander gestellt, für die Zeit vor und nach dem letzten Tyrosinversuch.

Um eine Vorstellung zu gewinnen über die Grösse des Verlustes an Homogentisinsäure, welche bei der Darstellung des Bleisalzes durch das überschüssige Bleiacetat oder in Form des Esters gelöst bleibt, haben wir die Reduction des Filtrates (inclusive des Waschwassers) vom Bleisalz bestimmt, auf die Gesammtmenge desselben und auf Gramm Silber berechnet; diese Werthe sind in der vorletzten Spalte der Tabelle enthalten.

Datum.	Menge. cbcm.	Spec. Gew.	Reduction des Harns: in cbcm. $^1/_{10}$-Normal-Silberlösung für 10 cbcm. Harn.	Reduction des Harns: in gr. Ag für die Tagesmenge.	H_2O-freies Bleisalz. gr.	Reduction des Filtrats vom Bleisalz im Ganzen in gr. Ag.	Bemerkungen.
12. VI.	1910	1,0125	6,5	13,408	—	—	Nahrung Fleischdiät u. Gemüse.
13. »	1720	1,0135	7,5	13,920	1,734	—	
14. »	2100	1,0125	7	15,876	1,724	3,240	Fleischdiät.
15. »	1800	1,016	21,5	41,796	13,086	3,564	12,5 gr. Tyrosin, Nachmittags, u. Fleischdiät.
16. »	1350	1,0155	12,5	18,225	3,669	2,592	Fleischdiät.
17. »	1130	1,0185	14,5	17,698	3,409	0,486	»

An dem Tyrosintage wurde die rohe Säure in 500 cbcm. Wasser gelöst und mit 75 cbcm. Bleiacetatlösung versetzt, während sonst 250 cbcm. Wasser und 30 cbcm. Bleizuckerlösung (1 : 5) verwendet wurden.

Die geschilderten Versuche zeigen, dass das dem Stoffwechsel zugeführte Tyrosin zum weitaus grössten Theile in Form von Homogentisinsäure mit dem Harn ausgeschieden worden ist.

Berechnet man auf Grund der früher ermittelten Reduction der Homogentisinsäure (1 gr. Homogentisinsäure = 2,60 gr. Silber) und des mittleren Reductionswerthes des Harns von 24 Stunden (bei gemischter Nahrung = 12,7 gr. Silber) die Zunahme der Reduction des Harns als Homogentisinsäure, so ergeben sich für die beiden ersten Tyrosinversuche folgende Verhältnisse:

	Reduction des Harns von 24 Stunden: in gr. Silber.	Reduction des Harns von 24 Stunden: auf Homogentisinsäure berechnet. gr.	Zunahme der Homogentisinsäure in gr.
Im Mittel von 14 Versuchen bei gemischter Kost . . .	12,7	4,6	—
Nach 10 gr. Tyrosin . . .	30,0	11,5	6,9
Nach 11,5 gr. Tyrosin . . .	37,67	14,2	9,4

Beim dritten Tyrosinversuch ist die Grundlage für die Berechnung insofern verändert, als gleichzeitig fast ausschliess-

liche Fleischnahrung gegeben wurde. Die durchschnittliche Reduction des Harns bei Fleischdiät betrug 16,9 gr. Silber für die Tagesmenge Harn, entsprechend 6,4 gr. Homogentisinsäure. Hiernach ergeben sich für den dritten Tyrosinversuch folgende Verhältnisse:

	Reduction des Harns von 24 Stunden bei Fleischdiät		Zunahme der Homogentisinsäure in gr.
	in gr. Silber.	auf Homogentisinsäure berechnet. gr.	
Mittel aus 17 Fleischtagen .	16,9	6,4	—
Nach 12,5 gr. Tyrosin . . .	41,79	15,8	9,4

Bei diesem Versuche wurde durch die Darstellung des Bleisalzes der Homogentisinsäure der Beweis erbracht, dass die Zunahme der Reduction des Harns thatsächlich durch die Mehrausscheidung der Homogentisinsäure bedingt worden ist.

Die verhältnissmässig niedrigen Ausbeuten an Bleisalz der beiden Tage vor dem Tyrosinversuch mit je 1,74 gr. pro Tag wurden an dem Tyrosintage auf 13,08 gr. erhöht. Hier besteht also eine wirkliche Zunahme um 11,34 gr. homogentisinsaures Blei = 7,04 gr. Homogentisinsäure, während die aus der Reduction berechnete Zunahme sich auf 9,4 gr. stellt.

Die Mehrausscheidung der Homogentisinsäure nach der Tyrosineingabe erfolgt fast ganz an dem Tage der Einnahme, eine geringe Vermehrung besteht nur noch an dem nächstfolgenden Tage, welche bei den obigen Berechnungen nicht herangezogen wurde.

Aus allen mitgetheilten Versuchen geht unzweideutig hervor — selbst wenn unsere quantitativen Bestimmungen der Homogentisinsäure noch mit Fehlerquellen behaftet wären, welche uns entgingen —, dass das Tyrosin im Organismus des von uns beobachteten Mannes in Homogentisinsäure beinahe vollständig verwandelt wird. Damit steht in vollkommener Uebereinstimmung unsere Beobachtung, dass der Alkaptonharn bei vorwiegender Fleischdiät um ca. 25% an Homogentisinsäure mehr enthielt, als bei gewöhnlicher Spitalkost. Die folgende Tabelle gibt darüber Aufschluss. In die-

Datum.	Harnmenge, cbcm.	Spec. Gewicht.	Reduction: in cbcm. 1/10-Normal-Silberlösung für 10 cbcm. Harn.	Reduction: berechnet in gr. Silber für die Gesammtmenge.	Homogentisinsaures Blei aus der Tagesmenge.	Reduction des Filtrates vom Bleisalz in gr. Ag.	Bemerkungen.
Mittel von 14 Tagen:	2030	1,011	5,8	12,7	—	—	Bei gewöhnl. Spitalkost.
6. VII.	1700	1,013	9,0	16,534	4,545	—	Reichliche Fleischdiät.
7. »	1900	1,014	8,0	16,416	4,404	—	» »
8. »	2350	1,013	7,5	19,035	2,136	—	» »
9. »	2035	1,013	7,5	16,483	2,612	—	» »
10. »	1480	1,017	10,5	16,783	3,872	—	» »
11. »	1610	1,0155	9,5	16,518	2,474	—	» »
12. VII.	1910	1,0125	6,5	13,408	—	—	Nahrung Fleisch u. Gemüse.
13. »	1720	1,0135	7,5	13,920	1,734	—	» » »
14. VII.	2100	1,0125	7,0	15,876	1,724	3,240	Fleischdiät.
17. »	1130	1,0185	14,5	17,698	3,409	0,486	»
18. »	1340	1,017	10,5	15,087	1,419	3,564	»
19. »	1800	1,014	9,0	17,496	—	—	»
20. »	1265	1,016	11,0	15,028	1,528	—	»
23. »	1140	1,017	13,5	16,621	3,414	1,296	»
26. »	1640	1,016	10,0	17,712	2,874	0,648	»
27. »	1410	1,0165	13,0	19,796	1,143	4,212	»
28. »	1340	1,0185	11,5	16,643	1,109	4,536	»
29. »	1070	1'018	14,0	16,178	0,893	5,508	»
31. »	1040	1,020	13,0	14,602	1,342	—	»
Mittel aus 17 Fleischtagen:	1550	—	9,9	16,74	—	—	—

selbe sind auch die täglich aus dem Harn gewonnenen Mengen des Bleisalzes eingetragen, welche wegen der früher angeführten Fehlerquellen erhebliche Schwankungen zeigen. Die Verluste bei der Darstellung des Bleisalzes sind zum Theil dadurch bedingt, dass das Bleisalz in überschüssigem Bleiacetat merklich löslich ist, und dass die Säure beim Abdestilliren des Aethers zum Theil in Homogentisinsäureester verwandelt wird, welche gleichfalls in das Filtrat vom Bleisalz übergeht. Der Ester reducirt Silberlösung wie die Säure. Man kann deshalb über die Grösse dieser beiden Fehlerquellen bei der Gewinnung des Bleisalzes einen Aufschluss gewinnen, wenn man die Reductionsfähigkeit des Filtrates vom Bleisalz wie die des Alkaptonharns im Ganzen ermittelt. Die hierbei gefundenen Werthe sind in der 7. Columne der Tabelle verzeichnet. Sie erklären zu einem guten Theile die Ungleichheiten in der Ausbeute des Bleisalzes.

4. Ueber die Entstehung der Homogentisinsäure aus Tyrosin.

Das dem Organismus in der Nahrung zugeführte oder das durch Spaltung von Eiweiss im Darm gebildete Tyrosin verschwindet unter normalen Umständen vollständig[1]), indem es in Kohlensäure, Wasser und Harnstoff umgewandelt wird, wofern es nicht im Darm durch Fäulnissprocesse, d. h. durch Bacterien in Phenole[2]) und aromatische Oxysäuren[3]) übergeführt wird. Ausserhalb des Darms kann das Tyrosin bei manchen Krankheiten durch Bacterien in den Organen in dieselben Producte übergeführt werden, welche normal nur im Darm entstehen (Brieger's Fäulnisskrankheiten)[4]). Ein Uebergang unveränderten Tyrosins in den Harn ist bis jetzt nur bei

---

[1]) Schultzen und Nencki, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 8, S. 124; Blendermann, diese Zeitschr., Bd. 6, S. 234; Schotten, ebenda, Bd. 7, S. 23.

[2]) Brieger, diese Zeitschr., Bd. 2, S. 257.

[3]) E. Baumann, D. Chem. Ges., Bd. 12, S. 452; diese Zeitschr., Bd. 4, S. 304.

[4]) Brieger, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. III, Heft 3.

den schweren Störungen des ganzen Stoffwechsels, welche die tödtlich verlaufende Phosphorvergiftung und acute Leberatrophie hervorrufen, beobachtet worden. Dabei findet sich im Harn eine mit der Homogentisinsäure isomere Säure, die von Schultzen und Ries[1]) entdeckte Oxymandelsäure, welche zu der Homogentisinsäure in keiner näheren Beziehung steht.

Alle aromatischen Verbindungen, welche aus dem Tyrosin durch Fäulnissprocesse innerhalb oder ausserhalb des Organismus erhalten worden sind, ferner die von Blendermann[2]) aus dem Harn von solchen Kaninchen gewonnenen Substanzen, welchen der ganze Verdauungsapparat mit Tyrosin angefüllt worden war, gehören der Parareihe wie das Tyrosin an; die in ihnen enthaltenen Seitenketten stehen zur OH-Gruppe in der 1,4-Stellung.

Vergleicht man dagegen die Constitution der Homogentisinsäure mit derjenigen des Tyrosins, so zeigt sich, dass zwischen beiden Körpern gar keine näheren oder directeren Beziehungen, als dass sie Benzolderivate sind, existiren, ja man kann wohl sagen, dass sie in ihrer chemischen Zusammensetzung so weit, als es für aromatische Säuren möglich ist, von einander verschieden sind.

OH

$CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$

Tyrosin.

OH

HO

$CH_2 \cdot COOH$

Homogentisinsäure.

Würde in den Organen und Geweben des Körpers als solchen die Umwandlung des Tyrosins zur Homogentisinsäure bewirkt, so wäre damit bewiesen, dass aus einem Benzolderivat von bestimmter Constitution jede andere aromatische Verbindung, welche in keinerlei erkennbarem

[1]) Chem. Centralbl., 1869, S. 680.

[2]) Diese Zeitschr., Bd. 6, S. 247.

chemischem Zusammenhang zum ersteren steht, gebildet werden kann. Wenn diese Voraussetzung zuträfe, so würde durch diese einzige Thatsache der sichere Boden, welcher durch die chemische Erforschung der Einwirkung des thierischen Stoffwechsels auf viele Hunderte von organischen Verbindungen in den letzten Jahrzehnten geschaffen worden ist, verloren gehen. Da in solchem Falle Alles aus Allem durch den Stoffwechsel gebildet werden könnte, würde die Untersuchung einzelner chemischer Vorgänge des Lebensprocesses so gut wie gegenstandslos werden[1]).

Wir glauben nicht, dass ein solcher Schluss überhaupt zulässig ist, weil er in Widerspruch treten würde mit den in sehr grosser Zahl vorliegenden Erfahrungen, welche durch die sorgfältigsten Beobachter festgestellt sind, über die Verwandlungen der verschiedensten organischen Verbindungen im Thierkörper. Processe, welche dem Uebergang des Tyrosins in Homogentisinsäure vergleichbar wären, würden bei jenen Untersuchungen sicher nicht durchaus übersehen worden sein.

Für die Umwandlung des Tyrosins in Homogentisinsäure ist jedenfalls erforderlich, dass zunächst die Phenolhydroxylgruppe des Tyrosins oder der aus diesem gebildeten p-Oxyphenylessigsäure verschwinde; durch eine gleichzeitige oder nachher erfolgende Oxydation, welche an einem anderen Punkte angreift, werden dann die beiden zu einander in der Parastellung befindlichen HO-Gruppen der Homogentisinsäure in das Molecül eingeführt. Die Umwandlung des Restes der Amidopropionsäure des Tyrosins in den Essigsäurerest der Homogentisinsäure ist endlich ein Vorgang, welcher der Erklärung keinerlei Schwierigkeit darbietet. Nicht so verhält es sich mit der Reduction der Phenolhydroxylgruppe. Obschon

---

[1]) Dann dürften Mittheilungen, wie die kürzlich von Bohland gemachte (D. med. Wochenschr., 1890, No. 46a), dass durch den thierischen Stoffwechsel aus Thymol Indoxyl- beziehungsweise Skatoxylverbindungen gebildet werden, nicht mehr auffällig erscheinen. Dass die Angabe von Bohland auf einer irrthümlichen Beobachtung beruht, hat Blum in unzweifelhafter Weise dargethan. D. med. Wochenschr., 1891, No. 5.

Reductionsprocesse im thierischen Organismus ausserhalb des Darmes verlaufen, wie z. B. die von v. Mering entdeckte Reduction des Chlorals zu Trichloräthylalkohol in der Urochloralsäure, und für die Erklärung des Vorkommens sehr sauerstoffarmer Verbindungen, der höheren Fettsäuren, des Cholesterins der Gallensäuren im Thierkörper die Mitwirkung von Reductionsprocessen bei deren Bildung nicht oder nicht ganz auszuschliessen ist, bleiben diese Vorgänge immer nur geringfügig hinsichtlich der Reductionsleistung, so weit diese bis jetzt ermittelt ist. Man hat niemals das Verschwinden einer Phenolhydroxylgruppe durch Reduction in den Organen des Thierkörpers beobachtet. Dazu wäre eine stärkere Reductionswirkung erforderlich, als Wasserstoff in statu nascendi bei niederen Temperaturen auszulösen vermag.

Wollte man aber trotz allem dem, was gegen einen solchen Schluss spricht, annehmen, die Homogentisinsäure sei aus dem im Darm resorbirten Tyrosin, oder einer daraus gebildeten Oxysäure (p-Oxyphenylessigsäure, p-Oxyphenylpropionsäure) durch einen eigenartigen, ungewöhnlichen Process in den Geweben entstanden, so bliebe noch die vollkommen unerklärte Thatsache bestehen, wesshalb dieser Process nur in sehr seltenen Fällen bei sonst gesunden Personen eintritt. Man dürfte sich hierbei keineswegs auf eine Analogie mit dem Diabetes oder der Cystinurie berufen, denn bei letztgenannten Erscheinungen handelt es sich nicht um die Bildung eines eigenartigen Körpers, sondern darum, dass ein dem Stoffwechsel zugeführter Stoff (Zucker) oder intermediäre Producte des Stoffwechsels (Zucker und Cystin) den Organismus unverändert passiren. Für diese Auffassung des Diabetes sprechen in erster Linie die durch ihre klaren Resultate ausgezeichneten Arbeiten von Mering's über den Phloridzindiabetes. Für das Cystin ergibt sich dieser Nachweis aus den Arbeiten über die Mercaptursäuren[1]), aus den Untersuchungen von Goldmann[2]) über das Verhalten des Cystins im Thierkörper

---

[1]) Baumann und Preusse, diese Zeitschr., Bd. 5, S. 309.
[2]) Diese Zeitschr., Bd. 9, S. 260.

und — last not least — aus der Mittheilung von E. Külz[1]), dass das Cystin (oder eine ihm sehr nahe stehende Substanz) bei der Pankreasverdauung von Eiweiss gebildet werden könne.

Die Annahme, dass auch die Homogentisinsäure ein intermediäres Product des Stoffwechsels sei, erscheint zwar von vornherein ausgeschlossen, wir haben aber doch nicht unterlassen, sie durch den Versuch zu prüfen. Wäre sie richtig, so würde die dem Stoffwechsel von aussen zugeführte Homogentisinsäure, ebenso wie es beim Traubenzucker und dem Cystin normaler Weise geschieht, verschwinden. Das ist aber bei der Homogentisinsäure, wie weiter unten gezeigt wird, ganz und gar nicht der Fall.

Während nach dem Ausgeführten keinerlei Möglichkeit vorliegt, durch die normal in den Geweben des Thierkörpers verlaufenden Processe die Verwandlung des Tyrosins in Homogentisinsäure zu erklären, bietet sich eine solche dar, wenn man den chemischen Vorgang der Einwirkung von «Hefen» mit der Homogentisinsäurebildung aus Tyrosin vergleicht. Der chemische Process, welcher bei der alkoholischen Gährung die Spaltung des Traubenzuckers in Alkohol und Kohlensäure bewirkt, und ebenso der Vorgang der Milchsäuregährung bestehen in einer gleichzeitigen Oxydation und Reduction innerhalb eines und desselben Moleküls, oder wie Hoppe-Seyler[2]) in seiner lichtvollen Darlegung der durch die Gährungen bewirkten Umwandlungen es darstellt, in einem Uebergang des Hydroxylsauerstoffs an ein anderes Kohlenstoffatom, welches dann weiter (bei der alkoholischen Gährung) zu Kohlensäure oxydirt wird.

Bei der alkoholischen Gährung des Traubenzuckers findet unzweifelhaft die Reduction von Hydroxylgruppen, die Verwandlung des Alkoholrestes CH_2OH in die CH_3-Gruppe statt. Diese Leistung ist aber dem Ersatz der Phenylhydroxylgruppe im Tyrosin durch Wasserstoff ungefähr gleichwerthig.

---

[1]) Zeitschr. f. Biologie, 1890.

[2]) Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, Berlin 1877, S. 121.

Durch eine gleichzeitig erfolgende Oxydation, welche an anderen Kohlenstoffatomen des Tyrosinmoleculs angreift, wird dessen Umwandlung zu Homogentisinsäure vollendet, welche danach in folgender Weise sich darstellt:

HO + H H | | H
H ⟨Benzolring⟩ H | | HO ⟨Benzolring⟩ H
$+ 5\,O =$ | | | $+ NH_3 + CO_2$
H H | | H OH | $+ 2\,H_2O$
$CH_2 \cdot CH(NH_2)COOH$ | | CH_2COOH
+ HH | | Homogentisinsäure.
Tyrosin.

Der Unterschied der Homogentisinsäurebildung aus Tyrosin von der Umwandlung des Traubenzuckers in Alkohol und Kohlensäure besteht somit wesentlich darin, dass die gleichzeitige Oxydation und Reduction des Tyrosinmolecüls nicht zu einem Zerfall desselben, wie es beim Traubenzucker der Fall ist, führt. Die Ursache davon kann wohl in dem festen Zusammenhalt des Benzolringes liegen.

Auf Grund obiger Darlegungen sind wir zu dem Schlusse gelangt, dass die Bildung der Homogentisinsäure aus dem Tyrosin nicht durch eine an sich unerklärbare abnorme Function des Stoffwechsels in den Geweben bedingt, sondern als eine Wirkung einer besonderen Art von Mikroorganismen anzusehen sei.

Mit diesem Schlusse sind wir vor die weitere Frage gestellt, wo diese Organismen zu suchen seien. Es ist bis jetzt nie beobachtet worden, dass Mikroorganismen in den Organen von Menschen, während des ganzen Lebens ohne Störungen hervorzurufen, gleichmässig sich fortentwickelt hätten, während im Darm Culturen von einer grossen Zahl verschiedener Bacterien stets sich erneuern. v. Udránszky und E. Baumann[1]) haben vor Kurzem die Thatsache festgestellt, dass zuweilen Bacterien, welche specifische, wenn

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 13, S. 562, und Bd. 15, S. 77.

auch nicht giftige Producte, die Diamine, durch ihren Lebensprocess liefern, im Darm eines Individuums dauernd, d. h. während Jahren, existiren können. Diese Bacterien sind nicht durch Reinculturen, sondern durch ihre Stoffwechselproducte, das Cadaverin und Putrescin Brieger's, in dem Darminhalte constatirt worden. Sie fehlen im Darm anderer gesunder oder kranker Personen. Ihr Vorkommen ist, wie es scheint, ungefähr ebenso selten als die Alkaptonurie. Es lag nahe, die Ursache der Alkaptonurie in dem Vorhandensein von Mikroorganismen besonderer Art gleichfalls im Darm zu suchen. Allein unsere in dieser Richtung unternommenen Versuche haben zu keinem beweisenden Abschlusse geführt, wenn auch einer derselben im Sinne der entwickelten Theorie geltend gemacht werden kann.

Die Darmentleerungen des Mannes, welcher die Homogentisinsäure lieferte, waren stets frei von dieser Säure. Wenn die Bildung der Homogentisinsäure im oberen Theile des Darmrohres erfolgt, und die ihre Bildung bedingenden Mikroorganismen in den unteren Parthien des Darms zu Grunde gehen, so wäre der Umstand, dass die Homogentisinsäure in den Fäces sich nicht findet, wohl verständlich.

Auch als frische Darmentleerungen mit Tyrosin und Wasser in verschlossenen Gefässen einige Tage auf Bluttemperatur erwärmt wurden, konnte eine Bildung von Homogentisinsäure nicht nachgewiesen werden.

Da das Salol, nach den darüber vorliegenden Erfahrungen, eine desinficirende Wirkung besonders im oberen Theile des Darmrohres zeigt, wurden dem Alkapton-Patienten der chirurgischen Klinik an drei Tagen hinter einander je 6 gr. Salol verabreicht, welches ohne Störungen zu machen ertragen wurde. Der danach entleerte Harn zeigte am dritten Tage ein starkes Heruntergehen des Reductionsvermögens unter den Mittelwerth, während an den ersten beiden Tagen kein Unterschied zu bemerken war, wie aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich ist:

Datum.	Harnmenge. cbcm.	Spec. Gew.	Reduction, gerechnet in cbcm. 1/10-Normal-Silberlösung für 10 cbcm. Harn.	Reduction, gerechnet in gr. Silber für die Gesammtmenge.	Bemerkungen.
Mittel aus 14tägiger Beobachtung	2030	—	5,8	12,7	Bei gewöhnl. Spitalkost.
24. VI.	2150	1,011	6	13,932	do.
25. »	1970	1,012	7	14,893	do. 6 gr. Salol.
26. »	1520	1,014	8,5	13,954	do. 6 gr. Salol.
27. »	1840	1,013	4,5	8,942	do. 6 gr. Salol.
28. »	1435	1,014	8,11	12.398	do.
29. »	1760	1,012	5,5	10,454	do.

Die Salicylsäureausscheidung war erst 3 Tage nach der letzten Salolgabe beendigt.

Da nach Eingabe von Salicylsäure[1]) sowohl als von Phenol[2]) stark reducirende Stoffe in den Harn übergehen, haben wir am Menschen Controlversuche über die Menge dieser Producte ausgeführt. Für die Anstellung eines solchen Versuches sind wir Herrn cand. med. Dünschmann zu bestem Danke verpflichtet. Der nach 6 gr. Salol (welches in Gaben von 4 und 2 gr. genommen wurde) entleerte Harn zeigte bei einem spec. Gewichte von 1,025 ein Reductionsvermögen von 1,5 cbcm. $^1/_{10}$-normater Silberlösung für 10 cbcm. Harn, während der normale Harn vor- und nachher nicht reducirte. Bei einem anderen, mit einer zweiten gesunden Person angestellten Controlversuch ergab sich nur eine unbedeutende Reduction des stark sauren Harns, welcher nach 6 gr. Salol entleert wurde[3]).

Wenn die an den Saloltagen beobachtete Reduction des Alkaptonharns auch nur zu einem merklichen Theile auf Umwandlungsproducte des Salols zurückzuführen wäre [wofür auch der leichte Uebergang dieses Harns in die alkalische

[1]) Vergl. Fleischer, Berl. klin. Wochenschr., 1875, No. 39—40.

[2]) Baumann und Preusse, Arch. f. Anat. u. Physiol., 1879, S. 245.

[3]) Der mit Salzsäure gekochte Harn reducirte dagegen stark die ammoniakalische Silberlösung.

Gährung, durch welche die Reductionsfähigkeit des sogen. Carbolharns vermehrt wird, sprechen könnte[1])], so wäre die nur am dritten Tage bemerkte Abnahme der Homogentisinsäure viel erheblicher und wäre auch an den anderen Tagen thatsächlich vorhanden. Es ist leider nicht möglich, in diesem Falle durch geeignete Controlversuche einen sicheren Maassstab der Berechnung zu gewinnen.

Das Resultat der Salolversuche ist danach, wenn es auch im Sinne unserer Theorie geltend gemacht werden kann, doch nicht so bestimmt und unzweideutig, dass es als ein Beweis dieser Theorie gelten kann.

Leider ist es uns nicht möglich gewesen, weitere Versuche über die Wirkung desinficirender Mittel auf die Homogentisinsäureproduction anzustellen. Auch weiter beabsichtigte Stoffwechselversuche mit Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure, welche einen weiteren Aufschluss über die Beziehungen der Homogentisinsäurebildung zu anderen aromatischen Körpern geben konnten, unterblieben, weil der solchen Versuchen abholde Patient bald die Klinik verliess, um in seine Heimath zu reisen.

Für die Ausführung und Ueberwachung der früher geschilderten Stoffwechselversuche sind wir Herrn Dr. Bräuninger, Assistent der Chirurgischen Klinik hier, zu bestem Danke verpflichtet.

Die von uns angestrebte Beweisführung, dass die Homogentisinsäure im Darm durch die Lebensthätigkeit von Mikroorganismen aus dem Tyrosin entstehe, ist somit zu einem Abschlusse nicht gelangt, und an diesem Punkte würden weitere Untersuchungen über die Alkaptonurie einzusetzen haben.

Wie auch das Endergebniss der weiteren experimentellen Prüfung der von uns aufgestellten Theorie ausfallen mag, die bis jetzt ermittelten Thatsachen liefern in jedem Falle neue Gesichtspunkte für die Beurtheilung mancher Erscheinungen:

Da die Bildung der Homogentisinsäure aus dem Tyrosin — ganz allgemein gesagt — durch Lebensprocesse feststeht,

[1]) Vergl. Baumann und Preusse.

ist die Annahme nicht unberechtigt, dass die der Homogentisinsäure so nahe verwandte Uroleucinsäure Kirk's durch einen ähnlichen Process wie jene gebildet werde. Die Ausscheidung der Uroleucinsäure wird dann, wenn sie, wie in Kirk's Fällen, die Alkaptonurie bedingt, nach Eingabe von Tyrosin oder durch Fleischnahrung in gleicher Weise, wie in unserem Falle die Homogentisinsäure, vermehrt werden. Die Beziehungen von Tyrosin, Homogentisinsäure und Uroleucinsäure lassen die folgenden Formeln, bei welchen die Stellung der HO-Gruppen nicht definirt ist, erkennen:

$$C_6H_4 < \begin{matrix} OH \\ CH_2 \cdot CH \cdot NH_2COOH \end{matrix}$$

Tyrosin.

$$C_6H_2 \begin{matrix} OH \\ OH \\ OH \\ CH_2CH_2COOH \end{matrix}$$

Uroleucinsäure
(Trioxyphenylpropionsäure).

$$C_6H_3 \begin{matrix} OH \\ OH \\ CH_2COOH \end{matrix}$$

Homogentisinsäure
(Dioxyphenylessigsäure).

Bis jetzt ist niemals eine Umwandlung des Tyrosins durch Fäulnissprocesse in Indol geglückt, obwohl oft Versuche zu diesem Zwecke angestellt worden sind. Die Annahme eines solchen Processes bietet im Princip, nachdem die Umwandlung des Tyrosins zu Homogentisinsäure erwiesen ist, keine Schwierigkeit mehr dar; vielleicht kommt es nur darauf an, die richtigen Culturen und die dafür erforderlichen Bedingungen zu finden.

Durch die Anführung dieser Möglichkeit soll indessen der von Nencki[1]) kürzlich entwickelten Theorie der Entstehung von Skatolessigsäure, Skatolcarbonsäure, Skatol und Indol aus einer hypothetischen Skatolamidoessigsäure ihre Berechtigung nicht abgesprochen werden; denn dieselbe bringt eine völlige Analogie der Abstammung der genannten Stoffe mit dem von E. Baumann[2]) thatsächlich geführten Nach-

---

[1]) Monatshefte für Chemie, Bd. 10, S. 506.
[2]) D. Chem. Ges., Bd. 12, S. 1450; Bd. 13, S. 279.

weis der Entstehung von p-Oxyphenylpropionsäure, p-Oxyphenylessigsäure, p-Kresol und Phenol zur Anwendung.

Die Möglichkeit einer Reduction des Tyrosins zu Phenylpropionsäure, welche nach E. und H. Salkowski[1]) bei der Fäulniss vom Eiweiss statt haben kann, wird durch die vorliegenden Versuche gleichfalls in ein anderes Licht gestellt. Man kann dieselbe trotz der negativen Ergebnisse der Versuche, welche in dieser Richtung von Schotten[2]), von Baumann[3]) und unter anderen Bedingungen von K. Baas[4]) angestellt worden sind, nicht mehr in Abrede stellen, wenn sie in Wirklichkeit auch nicht öfter als beispielsweise die Alkaptonurie zu Stande kommen mag.

Seitdem man Reinculturen von Bacterien zur Spaltung von Eiweiss und verwandten Stoffen verwendet, hat sich immer deutlicher herausgestellt, dass bestimmte Bacterien nicht alle bei der gemischten Fäulniss gefundenen Zersetzungsproducte besonders aus der aromatischen Reihe liefern, und dass es neben anderen Bedingungen immer darauf in erster Linie ankommt, dass im einzelnen Falle die günstigste Art von Spaltpilzen zur Verwendung gelangt[5]). Die Prüfung derartiger Culturen auf Homogentisinsäure, auf deren Vorhandensein auch eine starke Dunkelfärbung aufmerksam machen könnte, würde zunächst am besten so geschehen, dass man mit Ammoniak versetzt und die Verfärbung der Flüssigkeit beobachtet, die dann so wie bei dem Alkaptonharn unter Sauerstoffabsorption eintreten würde.

5. Ueber das Verhalten der Homogentisinsäure im Organismus.

Für manche der früher erörterten Fragen war es von Interesse, zu erfahren, ob und wie die dem Organismus von Aussen zugeführte Homogentisinsäure verändert wird.

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 7, S, 450.

[2]) Diese Zeitschr., Bd. 8, S. 61.

[3]) Ebend., Bd. 7, S. 451.

[4]) Ebend., Bd. 11, S. 185.

[5]) Nencki, l. c.; ferner Weyl und Kistasato. Zeitschr. Hyg., Bd. 8, S. 409; Lewandowski, D. med. Wochenschr., 1890, S. 1186 (No. 51).

Wir gaben desshalb einem Hunde (von 12 Kilo) 4,5 gr. reine Homogentisinsäure, in Dosen von 1,5 gr. auf 3mal. 2 Stunden nach der letzten Gabe wurden 20 cbcm. dunkel gefärbter Harn entleert; am anderen Morgen wurden noch 90 cbcm. Harn geliefert, der schwarzbraun gefärbt war, ammoniakalische Silberlösung, ebenso Fehling's Lösung stark reducirte und alkalische Reaction zeigte; die Wismuthprobe wurde nicht reducirt.

Auch der am zweiten und dritten Tage nachher entleerte Harn war dunkelbraun gefärbt; dieser Harn reducirte ammoniakalische Silberlösung nur noch, wenn er zuvor mit Salzsäure erwärmt war. Auch am vierten Tage waren diese Erscheinungen am Harn, wenn auch in geringerem Grade, noch wahrnehmbar.

An allen Tagen war die Aetherschwefelsäure auf Kosten der Sulfatschwefelsäure stark vermehrt, wie die folgenden Bestimmungen zeigen:

Datum.	Harnmenge.	Schwefelsaure H_2SO_4 aus 100 cbcm. Harn		$\frac{A}{B}$	Bemerkungen.
		aus den Sulfaten A.	aus den Aetherschwefels. B.		
10. XI.	—	—	—	—	Eingabe von 4,5 gr. Homogentisinsäure.
11. »	110	0,1968	0,0454	—	Harn schwarzbraun.
12. »	160	0,0538	0,0681	0,79	Harn dunkelbraun.
13. »	330	0,0559	0,0934	0,6	Harn dunkel.
14. »	265	0,0529	0,0631	0,84	Harn heller.
15. »	210	0,0631	0,0395	1,6	Harn heller.

Der Harn vom 11. beziehungsweise das von der Schwefelsäurebestimmung übrige Filtrat wurde wie der Alkaptonharn auf Homogentisinsäure verarbeitet; dabei wurde 0,250 gr. reines homogentisinsaures Blei, welches den Schmelzpunkt 214° zeigte, gewonnen. Neben diesem fand sich in dem mit Säure behandelten Harn ein Körper, der ganz wie Hydrochinon sich verhielt. Er wurde in dem Aetherauszug von der Homogentisinsäure durch Schütteln mit schwacher Soda-

lösung, welche die Säure aufnahm, getrennt. Beim Verdunsten des Aethers blieb der hydrochinonartige Körper zurück und wurde durch Umkrystallisiren gereinigt. Da seine Menge zur Analyse zu gering und die Substanz noch nicht ganz rein war, wurde sie in wässeriger Lösung benzoylirt; das Benzoylproduct wurde aus warmem Weingeist, in welchem es viel leichter als das Dibenzoylhydrochinon sich löste, gereinigt. Die hierbei in kleiner Menge erhaltenen Kryställchen schmolzen bei 113°, das Dibenzoylhydrochinon schmilzt bei 199°. Eine Probe des zum Vergleich dargestellten Dibenzoyltoluhydrochinons schmolz bei 121°. Darnach ist es in hohem Grade wahrscheinlich, dass die Homogentisinsäure zum Theil im Organismus in Kohlensäure und Toluhydrochinon gespalten worden ist, welches letztere auch an den folgenden Tagen in Form von Aetherschwefelsäure ausgeschieden wurde. Unveränderte Homogentisinsäure wurde jedenfalls nur an dem der Eingabe folgenden Tage mit dem Harn ausgeschieden. Der Hund war während der Dauer des Versuches vollständig munter und gesund.

Aus den am Tage nach der Eingabe der Homogentisinsäure gelieferten Fäces des Thieres wurde durch Ausschütteln mit Aether, nachdem mit Schwefelsäure angesäuert war, eine kleine Menge von unveränderter Säure erhalten, welche 0,207 gr. reines homogentisinsaures Blei vom Schmelzpunkt 214—215° ergab.

Da die in kurzer Zeit erfolgte Darreichung von 4,5 gr. Homogentisinsäure an einen kleinen Hund eine ausserordentlich grosse Dosis darstellt, so ergibt sich aus dem Versuch die vollkommene Ungiftigkeit der Säure. Der Uebergang einer kleinen Menge der unveränderten Säure in die Fäces kann unter diesen Umständen nicht dagegen sprechen, dass beim Menschen die Säure im Darm gebildet wird, obwohl sie hier in den Darmausleerungen nicht zu finden war.

Die Spaltung der dem Hunde verfütterten Homogentisinsäure in Kohlensäure und Toluhydrochinon

$$C_6H_3\begin{cases}OH\\OH\\CH_2COOH\end{cases} = C_6H_3\begin{cases}OH\\OH\\CH_3\end{cases} + CO_2$$

ist ganz analog der Spaltung der p-Oxyphenylessigsäure in p-Kresol und Kohlensäure:

$$C_6H_4\begin{matrix}OH\\CH_2COOH\end{matrix} = C_6H_4\begin{matrix}OH\\CH_3\end{matrix} + CO_2,$$

welche bei der Fäulniss erfolgt. Es ist daher der Schluss berechtigt, dass diese Spaltung der Homogentisinsäure, so weit sie beim Hunde stattfand, im Darm durch die dort bestehenden Fäulnissprocesse bewirkt wurde.

Der Umstand, dass im Darm des Alkaptonmannes eine solche Spaltung der Homogentisinsäure gar nicht erfolgt, da die Aetherschwefelsäureausscheidung nie vermehrt war, kann wohl durch die Annahme erklärt werden, dass die Homogentisinsäurebildung nur im obersten Theile des Darmes vor sich ging, wo noch keine Fäulniss besteht, und dass die in der Zeiteinheit gebildeten kleinen Mengen von Homogentisinsäure resorbirt wurden, bevor sie mit den Fäulnissprocessen selbst in Berührung kamen.

Es ist indessen selbstverständlich, dass diese Annahme einer weiteren experimentellen Prüfung unterzogen werden muss.

Da der Alkaptonharn das ihm eigenthümliche Verhalten nicht einer bestimmten Substanz in jedem Falle verdankt, sondern bald die Homogentisinsäure, bald die Uroleucinsäure seine Eigenschaften bedingt, empfiehlt es sich, den von Bödeker eingeführten Namen, der ein sehr sachgemässer ist, wieder in Gebrauch zu nehmen, was wir in der vorliegenden Arbeit schon gethan haben.

Durch die bisherigen Ermittelungen ist es indessen nicht ausgeschlossen, dass es Fälle von Alkaptonurie gibt, bei welchen ausser den genannten Säuren noch andere, ihnen mehr oder weniger verwandte, Stoffe die Ursache der Alkaptonurie bilden. Es wird daher vielleicht auch in Zukunft die Alkaptonurie ein werthvolles Hilfsmittel sein, um unser Wissen im Gebiete der allgemeinen Stoffwechselvorgänge zu erweitern und zu vertiefen.

Freiburg i. B., 6. Januar 1891.

Ueber Vorkommen und Nachweis des Hämatoporphyrins im Harn.

Von

Prof. E. Salkowski.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 14. Januar 1891.)

In den Monaten Februar, April und Ende Juli 1890 gingen mir durch die Güte des Herrn Sanit.-Rath Dr. Jastrowitz drei von verschiedenen Patienten stammende Harnproben zu, welche durch ihre ganz eigenthümliche dunkle Farbe die Aufmerksamkeit erregt hatten. Besonders stark war die Färbung bei Harn I und III, etwas weniger ausgeprägt bei Harn II. Im Harnglase erschienen die Harne bei auffallendem Licht undurchsichtig, fast schwarz, in dünnen Schichten gelbroth bis braunroth. Die Nuance der Färbung lässt sich schwer durch einen Vergleich veranschaulichen, am ehesten könnte man sie mit der einer alkoholischen Lösung von Drachenblut-Harz vergleichen. Erhitzen zum Sieden änderte die Farbe nicht, abgesehen von einer geringfügigen Trübung bei Harn I in Folge eines minimalen Eiweissgehaltes. Dass die Färbung nicht von Oxyhämoglobin oder Methämoglobin herrührte, hatte College Jastrowitz schon festgestellt.

Die eigenthümlichen Absorptionserscheinungen, welche die Harne nach passender Verdünnung mit dem mehrfachen Volumen Wasser bei der spectroscopischen Untersuchung darboten, sowie die Aenderung derselben beim Ansäuern führten alsbald auf die Vermuthung, dass die Färbung des Harns

von einem Gehalt an Hämatoporphyrin herrühren möchte. Die Frage der Identität oder Nichtidentität des vorliegenden Harnfarbstoffstoffs mit Hämatoporphyrin habe ich durch eine möglichst genaue Vergleichung der pathologischen Harne mit normalem Harn, welcher mit etwas salzsaurem Hämatoporphyrin versetzt war, zu entscheiden gesucht. Eine kleine Quantität eines Originalpräparates von krystallisirtem salzsaurem Hämatoporphyrin, welches ich der Güte von Herrn Prof. Nencki verdanke, ermöglichte diese Vergleichung ohne Schwierigkeit.

1. Das spectroscopische Verhalten.

Alle drei Harne absorbirten, direct untersucht, das Spectrum vollständig bis auf einen Theil des Roth und Gelb; bei passender Verdünnung hellte sich das Spectrum auf und liess nunmehr drei Streifen erkennen, deren Lage aus der beigefügten Tabelle (S. 288) ersichtlich ist. Ausser diesen war noch eine schwache Absorption links von der Linie D im Roth erkennbar, welche nach Zusatz von Ammoniak an Deutlichkeit zunahm, während die zweite Linie, vom Roth aus gerechnet, dadurch etwas verschwommener wurde.

Beim Ansäuern mit Salszsäure traten die beiden ausserordentlich charakteristischen Absorptionsstreifen des Hämatoporphyrins in saurer Lösung hervor, die ebenso, wie die der alkalischen resp. nahezu neutralen Lösung von Hoppe-Seyler[1]) beschrieben, von Nencki und Sieber[2]), denen zuerst die Darstellung dieses Farbstoffes in Form krystallisirter Verbindungen gelang, bestätigt sind. Die Lage der beiden Streifen, die schärfere Begrenzung, grössere Intensität und grössere Breite des zweiten, rechts gelegenen Streifens, sowie endlich der Umstand, dass sich an derjenigen Seite des breiten Streifens, welcher dem Roth zugekehrt ist, noch ein schwaches, ziemlich schmales, aber ziemlich gut begrenztes Absorptions-

---

[1]) Tübinger med.-chem. Untersuchungen, 1871, S. 528.

[2]) Nencki und Sieber: Ueber das Hämatoporphyrin, Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss., XCVII. Abth., II^{b}, Febr. 1888.

Tabelle über die Lage der Absorptionsstreifen[1]).

Harn mit salzsaurem Hämatoporphyrin.	Harn I.	Harn II.	Harn III.	Wässrige Lösung von salzsaurem Hämatoporphyrin, stark sauer.	Gereinigter Kalkniederschlag aus I in verdünnter Salzsäure.	Bleiniederschlag aus III mit HCl-haltigem Alkohol.
Direct untersucht, schwach sauer			—	—	—	—
92—95	zweifelhaft	Andeutung von Streifen bei 90	—	—	—	—
102—108	102—108	100—104	—	—	—	—
110—115	113—117	110—115	—	—	—	—
122—130	124—130	121-129[2])	—	—	—	—
Mit Salzsäure angesäuert.						
97—100	97—100	97—100	97—100	97-100[3])	96-100[4])	97—99
107—112	105—111	105—111	105-110	107—113	106—112	105—110
Durch Zusatz von Ammoniak alkalisch gemacht.						
92—95[5])	92—95 deutlich	92—95 deutlich	92—95 schwach	90—93	91—93	92—95
100—104	sehr schwach. Absorption bei 100	schwache Absorption bei 100	101—105	100—105	101—106	101—105
109—113	111—115	111—115	110—116	109—113	109—115	112—116
120—130	122-129[6])	122—129	122—130	121—128	122—129	122-130[7])

[1]) Na = 100 der Skala, Sr δ = 146—147 Kα = 72.

[2]) Nach Violet undeutlich begrenzt.

[3]) Schwache Absorption zwischen 103 und 107 mit Verstärkung bei 103, so dass der Eindruck entsteht, als ob bei 103 ein dritter schmaler Streifen liegt.

[4]) Schwache Absorption zwischen 103 und 106.

[5]) Bedeutend stärkere Absorption, wie ohne Ammoniak.

[6]) Der Zusatz von Ammoniak bewirkt ausser den aus der Tabelle ersichtlichen Veränderungen noch: a) Aufhellung des Raumes zwischen dem 3. und 4. Streifen, b) Aufhellung des Spectrums hinter dem 4. Streifen nach Violet hin.

[7]) Grenze nach Violet sehr undeutlich.

band unmittelbar anschliesst[1]), machen die Absorptionserscheinungen des salzsauren Hämatoporphyrins so ausserordentlich charakteristisch, dass diese Streifen fast allein schon zur Diagnose des Hämatoporphyrins ausreichen.

Der mit salzsaurem Hämatoporphyrin versetzte Harn zeigte bei der directen Untersuchung 4 Absorptionsstreifen, von denen der erste links, d. h. rothwärts von der Linie D gelegene sehr schwach war, bei Zusatz von Ammoniak an Deutlichkeit zunahm, nach dem Ansäuern mit Salzsäure die beiden Streifen des salzsauren Hämatoporphyrins. Eine geringe Abweichung in den Spectralerscheinungen bestand insofern, als eine wesentliche Abschwächung des zweiten Streifens (vom Roth her gerechnet) bei Ammoniakzusatz in dem Controllharn nicht zu bemerken war. Da der pathologische Harn augenscheinlich — nämlich seiner Farbe nach zu schliessen — noch andere Farbstoffe enthielt, auch trotz Filtriren nicht völlig klar war, so ist es nicht auffallend, dass sein Spectralbild kein so reines war, wie bei dem Controllharn: namentlich bestand zwischen dem 3. und 4. Streifen (immer vom Roth aus gerechnet) noch einige Absorption, ferner war die Begrenzung des 4. Streifen nach dem Violet hin keine ganz scharfe. Diese diffusen Absorptionen hellten sich bei Ammonzusatz erheblich auf und das ganze Spectrum des Harns gewann dadurch an Deutlichkeit und Prägnanz.

Es könnte vielleicht Befremden erregen, dass der Harn trotz saurer Reaction nicht das Spectrum des sauren, sondern das des alkalischen Hämatoporphyrins zeigte, allein Nencki und Sieber geben schon an, dass die alkalische Lösung des Hämatoporphyrins mit Essigsäure angesäuert, 4 Streifen zeigt und die beiden Absorptionsstreifen des Hämatoporphyrins nur dann zu beobachten sind, wenn die Lösung freie Salz-

---

[1]) Man könnte auch sagen: Der breite Streifen besteht aus 2 Theilen, einem breiteren, schärferen und dunkleren, nach Blau hin liegenden, und einem schmäleren, schwächeren, nicht so gut begrenzten, nach Roth hin liegenden. Stokvis (siehe weiter unten) spricht geradezu von 3 Streifen der Lösung des Hämatoporphyrins in saurer Lösung.

säure enthält. Das ist nun zwar streng genommen der Fall, wenn man einen sauer reagirenden Harn mit salzsaurem Hämatoporphyrin versetzt, es ist indessen wohl erklärlich, dass die Wirkung der Salzsäure in diesem Fall nicht hervortritt, sei es in Folge der starken Verdünnung, sei es in Folge von Bindung der Salzsäure an phosphorsaures Natron.

Vergleicht man die in der Tabelle für die Lage der Absorptionsstreifen angegebenen Zahlen, so findet man, dass eine vollkommene Uebereinstimmung zwischen dem Controllharn, den pathologischen Harnen und den aus diesen dargestellten farbstoffhaltigen Lösungen allerdings nicht stattfindet. Zum Zustandekommen dieser Differenzen tragen eine Reihe von Momenten bei:

1. Die meisten der in Betracht kommenden Absorptionsstreifen sind nicht so scharf begrenzt, dass dem subjectiven Ermessen nicht ein gewisser Spielraum gelassen wäre, um so mehr als die Wahrnehmung der Skalentheilstriche in den helleren Theilen des Spectrums nicht immer ganz leicht ist: das zeigen wiederholte unter genau denselben Bedingungen angestellte Ablesungen. Diese Schwierigkeit ist natürlich bei den pathologischen Harnen noch grösser, wie bei dem Controllharn, weil hier noch leichte Verdunkelungen zwischen den Streifen auftreten. 2. Die Lage der Absorptionsstreifen wechselt, wenn man, wie es hier der Einfachheit und Schnelligkeit wegen geschah, nicht Gefässe mit planparallelen Wänden, sondern Reagensgläser anwendet, um ein Geringes je nach der Stellung zum Spalt, welche man den Gläsern giebt. 3. Auch bei der Einstellung der Skala auf bestimmte Absorptionslinien der Emissionsspectren von Natrium, Kalium, Strontium ist eine grössere Genauigkeit als auf 1 bis 2 Theilstriche nicht erreichbar. Da die Beobachtungen nun mehrere Monate auseinander liegen, so musste die Skala wiederholt eingestellt werden; auch hierdurch mögen kleine Ungenauigkeiten in die Beobachtungen hineingelangt sein. 4. Endlich ist zu erwägen, dass das Hämatoporphyrin nach den Angaben von Nencki und Sieber «ein sehr delicater und leicht veränderlicher Körper» ist, und es ist nicht ausgeschlossen, dass

die Lage der Absorptionsstreifen einigermassen von der Beimischung kleiner Mengen von Zersetzungsproducten beeinflusst wird.

Zieht man alle diese Umstände in Betracht, so wird man eine vollkommene Uebereinstimmung zwischen den Absorptionserscheinungen des reinen Hämatoporphyrins in Harn gelöst und den pathologischen Harnen nicht erwarten können, man wird vielmehr zugeben müssen, dass geringe Unterschiede keinen hinreichenden Einwand gegen die Identificirung der Farbstoffe bilden, vorausgesetzt, dass sonst genügende Gründe für diese Annahme vorliegen. Es ist auch bemerkenswerth, dass die aus dem Harn erhaltenen Farbstofflösungen, von deren Darstellung weiter unten die Rede sein wird, eine grössere Uebereinstimmung der Spectraleigenschaften mit denen des Hämatoporphyrins zeigten, wie der Harn selbst.

2. Das Verhalten des Farbstoffs zu Lösungsmitteln.

Beim Schütteln des Harns mit Aether, Benzol, Chloroform, Essigäther, Amylalkohol geht kein Farbstoff in diese Lösungsmittel über. Wird der Harn vorher mit Salzsäure angesäuert, so bleibt das Verhalten zu Aether, Benzol, Chloroform dasselbe. Der Essigäther färbt sich schwach röthlich, der Amylalkohol gelbroth. Die Essigätherlösung zeigte bei der spectroscopischen Untersuchung bei Harn I den Absorptionsstreifen des Urobilins, bei Harn II und III nicht sicher. Der Amylalkoholauszug zeigte die beiden Absorptionsstreifen des Hämatoporphyrins in saurer Lösung, bei Harn I ausserdem den Urobilinstreifen. Der Farbstoff geht sehr langsam in den Amylalkohol über: erst nach mehrtägigem Stehen erscheint die wässrige Schicht nur noch schwach gefärbt.

Der Controllharn — es ist darunter stets der mit Hämatoporphyrin versetzte Harn verstanden — verhielt sich ganz ebenso; namentlich war auch bei diesem auffällig, dass Amylalkohol den Farbstoff nur sehr langsam aufnahm.

3. Verhalten des Harns zu Reagentien. — Darstellung gereinigter Farbstofflösungen.

1. Bei Zusatz von Salzsäure erhielt die Farbe des Harns eine violette Nuance, bei Zusatz von Ammoniak wurde sie mehr gelb. Der Controllharn verhielt sich ebenso.

2. Bei starkem Kochen mit Salpetersäure blasst die Farbe etwas ab, ist jedoch selbst durch rauchende Salpetersäure nicht ganz zu zerstören, schliesslich wird der Harn gelb. — Der Controllharn verhielt sich ebenso.

3. Beim Erhitzen mit Zinkstaub + Natronlauge wird die Farbe des Harns heller, schliesslich citronengelb oder noch heller, der Harn I zeigte alsdann immer noch den Absorptionsstreifen des Urobilins, bei II und III war derselbe in der alkalischen Lösung nicht bemerkbar.

Die abfiltrirten Lösungen blieben beim Stehen an der Luft unverändert, erneute Oxydation trat nicht ein, dagegen färbten sie sich nach dem Ansäuern mit Salzsäure allmälig mehr und mehr röthlich. Nach 24stündigem Stehen zeigte I die beiden Streifen des Hämatoporphyrins und eine Verdunkelung in der Gegend des Urobilinstreifens, II nur eine Andeutung des Urobilinstreifens, III gleichfalls eine Andeutung desselben und ausserdem die beiden Streifen des Hämatoporphyrins. — Zusatz von Ammoniak und Chlorzink zu diesen Lösungen bewirkte bei II und III keine Fluorescenz, bei I ist dieser Zusatz versäumt worden.

Der Controllharn wurde beim Behandeln mit Zinkstaub + Natronlauge gleichfalls hellgelb und zeigte keine Absorptionsstreifen. Das Filtrat blieb beim Stehen an der Luft unverändert, nach dem Ansäuern wurde es allmälig roth und zeigte nach 24 Stunden die beiden Streifen des Hämatoporphyrins in saurer Lösung in ausgezeichneter Weise.

4. Nach den Beobachtungen von Nencki und Sieber wird das Hämatoporphyrin durch Behandlung mit Zinn + Salzsäure zu einem Körper reducirt, welcher die grösste Aehnlichkeit mit Urobilin hat, mit ihm den Absorptionsstreifen

und die grüne Fluorescenz in ammoniakalischer Lösung bei Zusatz von Chlorzink theilt.

In dem Controllharn gelang diese Reduction zwar insoweit, als derselbe beim Behandeln mit Zinn + Salzsäure gelbroth wurde, dagegen kam der Absorptionsstreifen des Urobilins nicht zur Beobachtung. Die Angaben von Nencki und Sieber beziehen sich übrigens auf die Reduction einer alkoholischen Lösung.

Die pathologischen Harne verhielten sich ähnlich, jedoch etwas abweichend und unter sich nicht ganz übereinstimmend. Alle drei Harne wurden beim Behandeln mit Zinn + Salzsäure gelbroth und absorbirten den grössten Theil des Spectrums; nach passender Verdünnung zeigte I den Absorptionsstreifen des Urobilins, wahrscheinlich indessen vom präformirten Urobilin abhängig, II und III eine starke Verdunkelung in der Gegend des Urobilins, jedoch keinen scharf begrenzten Absorptionsstreifen.

Die Farbe der (sauren) Lösungen glich täuschend der einer Lösung von möglichst reinem Urobilin: die Lösungen zeigten die charakteristische rothe Färbung an den Rändern der Flüssigkeit und wurden bei starker Verdünnung, ebenso wie eine Lösung von Urobilin, rosenroth; auf Zusatz von Ammoniak wurde in allen Lösungen die Farbe rein gelb, Fluorescenz trat jedoch auf Zusatz von Chlorzink nicht ein.

5. Neutrales Bleiacetat fällte aus allen Harnen den Farbstoff völlig aus: die Filtrate waren farblos oder leicht gelblich. Beim Behandeln des ausgewaschenen Bleiniederschlages mit salzsäurehaltigem Alkohol resultirte eine rothe Lösung, welche die beiden Streifen des sauren Hämatoporphyrins, resp. nach Zusatz von Ammoniak 4 Streifen zeigte. Amylalkohol nahm aus der sauren, mit Wasser verdünnten Lösung den Farbstoff nur langsam und schwierig auf, die amylalkoholische Lösung zeigte, direct untersucht, 2 Streifen, als sie aber durch wiederholtes Schütteln mit mehrfach erneuerten Portionen Wasser von überschüssiger Säure befreit war, liess sie die 4 Streifen des neutralen Hämatoporphyrins erkennen.

Der Amylalkohol nimmt übrigens beim Schütteln nicht allein Hämatoporphyrin auf, denn in einem gewissen Zeitpunkt ist der Amylalkohol stärker gefärbt, wie die darunter befindliche wässrige Lösung, und giebt trotzdem schwächere Absorptionsstreifen wie diese. Ausserdem ist in diesem Zeitpunkt die wässrige saure Lösung rein rothviolet gefärbt, die Amylalkohollösung dagegen bräunlich.

Der Controllharn verhielt sich bezüglich der Fällbarkeit u. s. w. ganz ebenso.

6. Der rothe Farbstoff des Harns ist fällbar durch alkalische Chlorbaryumlösung (gleiche Vol. Barytwasser und 10procentige Chlorbaryumlösung), sowie durch Chlorcalcium + Ammoniak oder Natriumcarbonat. Eine vollständige Entfärbung des Harns findet bei diesen Fällungen nicht statt. Die durch Behandeln der ausgewaschenen Niederschläge mit salzsäurehaltigem Alkohol erhaltenen Lösungen sind ausgezeichnet durch ihre reine rothviolette Farbe und die Prägnanz der Absorptionserscheinungen, sie sind daher auch besonders geeignet zur Demonstration des Hämatoporphyrins im Harn und zum Nachweis desselben; ich komme auf diesen Punkt weiter unten noch einmal zurück.

Aus der Kalkfällung lässt sich leicht ein haltbares Farbstoffpräparat herstellen. Zu diesem Behufe macht man die filtrirte Lösung, welche aus der Behandlung des Kalkniederschlages mit salzsäurehaltigem Alkohol resultirt, mit Ammoniak alkalisch: der entstehende voluminöse, der Hauptsache nach aus Calciumphosphat bestehende, Niederschlag ist braunroth gefärbt durch Beimischung von Hämatoporphyrincalcium. Man filtrirt denselben ab, wäscht mit Wasser bis zum Verschwinden oder fast völligen Verschwinden der Chlorreaction, dann mit Alkohol und Aether, trocknet über Schwefelsäure. Eine sehr geringe Quantität dieses Niederschlages, der beim Erhitzen im Reagensglas reichlich Pyrrholdämpfe entwickelt, giebt mit salzsäurehaltigem Alkohol oder verdünnter Salzsäure übergossen eine rothviolette Lösung mit den charakteristischen Absorptionsstreifen. Bei Zusatz von Ammoniak scheidet sich zwar Calciumphosphat sammt dem Farbstoff in der gelb-

gewordenen Flüssigkeit aus, die 4 Absorptionsstreifen sind aber trotzdem recht gut zu beobachten.

7. Eine Quantität des Harns I wurde auf dem Wasserbad eingeengt und mit Alkohol absolut. gefällt. Der rothe Farbstoff ging nicht in den Alkoholauszug über, dieser erschien vielmehr von röthlicher Farbe und zeigte bei der spectroscopischen Untersuchung einen intensiven Urobilinstreifen; auf Zusatz von Ammoniak und Chlorzink nebst etwas Wasser trat starke grüne Fluorescenz ein, sowie die charakteristische, wenn auch geringe Verschiebung des Absorptionsstreifens nach Roth hin. In dem Harn I ist also Urobilin präformirt enthalten und zwar in ziemlich erheblicher Menge, möglicherweise auch noch mehr durch Eindampfen entstanden, wiewohl diese Annahme wenig wahrscheinlich ist. Ob es sich um das gewöhnliche Urobilin handelt, oder um den von Hoppe-Seyler[1]) durch Einwirkung von Zinn + Salzsäure auf Hämatin in alkoholischer Lösung enthaltenen Farbstoff, oder den von Nencki und Sieber aus ihrem Hämatoporphyrin auf demselben Wege dargestellten Farbstoff, muss einstweilen dahingestellt bleiben.

Der Alkoholniederschlag wurde abfiltrirt, mit Alkohol absolut. bis zum Verschwinden jeder Spur von Färbung gewaschen, dann mit Aether nachgewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Er bildete, so dargestellt, ein trockenes braunrothes Pulver, welches sich in Wasser leicht und mit tief braunrother Farbe löste. Die Lösung reagirte neutral, zeigte dieselben Absorptionserscheinungen, wie der Harn; auf Säurezusatz nahm die Lösung einen mehr rothvioletten Farbenton an.

Da das Hämatoporphyrin in Wasser unlöslich ist, sah ich anfangs in dem angegebenen Verhalten des Farbstoffs zu Alkohol und Wasser einen Widerspruch zu der Annahme, dass der Farbstoff mit Hämatoporphyrin identisch sei. Es ergab sich indessen bald, dass der Niederschlag eine Alkaliverbindung des Hämatoporphyrins darstellt resp. enthält,

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. VII, S. 1065.

welche in Wasser löslich ist. Eine sehr kleine Quantität des Niederschlages lieferte beim Veraschen eine stark alkalisch reagirende, mit Säure brausende, in Wasser leicht lösliche Asche, in welcher ausserdem natürlich Chloride enthalten waren.

In einem trocknen Reagensglas erhitzt, lieferte der Alkoholniederschlag reichlich Pyrrholdämpfe, welche einen mit Salzsäure angefeuchteten Fichtenspahn kirschroth färbten.

Mit Harn II und III ist das Eindampfen und Fällen mit Alkohol nicht ausgeführt, weil der Farbstoff durch diese Manipulation augenscheinlich doch etwas verändert war.

Eine kleine Quantität des Controllharns verhielt sich beim Eindampfen und Fällen mit Alkohol nicht ganz ebenso, trotzdem der Harn vorher mit Natriumcarbonat neutralisirt war. Der Alkoholniederschlag, abfiltrirt und sorgfältig mit Alkohol gewaschen, gab an salzsäurehaltigen Alkohol zwar Hämatoporphyrin ab, aber dasselbe fand sich nicht nur im Niederschlag, sondern auch im Alkoholauszug.

Fasst man alle beobachteten Erscheinungen zusammen, so kann es, meiner Ansicht nach, keinem Zweifel unterliegen, dass die untersuchten Harne sämmtlich Hämatoporphyrin enthielten, und zwar I und III in erheblicher, II in geringerer Quantität. Der einzige, auch nicht durchgreifende Unterschied, der sich zwischen dem Verhalten des pathologischen Harns und des Controllharns ergeben hat, das etwas verschiedene Verhalten des eingedampften Harns zu Alkohol, kann als entscheidender Grund gegen die Annahme der Identität wohl nicht geltend gemacht werden: es können sehr wohl in dem pathologischen Harn besondere, die Fällbarkeit des Farbstoffs begünstigende Bedingungen vorhanden gewesen sein, die sich zur Zeit noch nicht übersehen lassen. Ich glaube daher behaupten zu dürfen, dass der rothe Farbstoff der Harne mit Hämatoporphyrin identisch ist, wenn auch der letzte, entscheidende Beweis, die Reindarstellung und Analyse desselben, noch aussteht. Die Darstellung des Farbstoffs konnte nicht ernstlich in Angriff genommen werden, weil mein

Material durch die zahlreichen Versuche zu sehr reducirt war. In Anbetracht der von Nencki und Sieber hervorgehobenen leichten Veränderlichkeit des Hämatoporphyrins würde die Darstellung allerdings nicht unerhebliche Schwierigkeiten bereiten, indessen glaube ich doch, dass sie, wenn man über grössere Quantitäten verfügt, unter Benutzung der Calciumverbindung gelingen würde.

Es sei mir gestattet, noch mit einigen Worten auf den Nachweis des Hämatoporphyrins im Harn für klinische Zwecke einzugehen. Naturgemäss kann es sich dabei nur um die Frage handeln, wie man möglichst schnell und einfach aus dem Harn eine Farbstofflösung herstellt, welche ein möglichst prägnantes und reines Absorptionsspectrum liefert. Nach meinen Erfahrungen ist hierzu am meisten die Baryt- und die Kalkfällung geeignet. Man verfährt zweckmässig folgendermassen:

Circa 30 cbcm. Harn werden mit alkalischer Chlorbaryumlösung (Gemisch gleicher Volumina kaltgesättigter Barythydratlösung und Chlorbaryumlösung 1 : 10) vollständig ausgefällt, der Niederschlag einige mal mit Wasser, dann einmal mit Alkohol absolut. gewaschen, der Alkohol möglichst abtropfen gelassen. Den feuchten Niederschlag bringt man in eine kleine Reibschaale, setzt etwa 6 bis 8 Tropfen Salzsäure und eventuell noch so viel Alkohol absolut. hinzu, dass ein dünner Brei entsteht, verreibt gut, lässt einige Zeit stehen oder erwärmt gelinde auf dem Wasserbad und filtrirt durch ein trocknes Filter. Liefert die Mischung zu wenig Filtrat, so wäscht man mit etwas Alkohol nach, jedoch ist es zweckmässig, im Ganzen nicht mehr wie 8—10 cbcm. Alkoholauszug herzustellen. — Man kann auch den Farbstoff aus dem mit Wasser und Alkohol gewaschenen Niederschlag durch wiederholtes Aufgiessen eines erwärmten Gemisches aus etwa 10 cbcm. Alkohol absolut. und 6—8 Tropfen Salzsäure ausziehen. — Bei Gegenwart von Hämatoporphyrin im Harn ist der Alkoholauszug roth gefärbt und zeigt die beiden charakteristischen Absorptionsstreifen des Hämatoporphyrins in saurer Lösung. Macht man die Lösung ammoniakalisch,

so nimmt sie einen gelblichen Farbenton an und zeigt nunmehr die 4 Absorptionsstreifen des Hämatoporphyrins in alkalischer Lösung. Eine bei Zusatz von Ammoniak etwa auftretende Trübung ist durch geringen Zusatz von Wasser oder, wenn die Trübung dabei bleibt, durch Filtriren zu beseitigen.

Eine Verwechslung mit anderen Farbstoffen erscheint bei diesem Verfahren vollständig ausgeschlossen. Es gelang so noch der Nachweis in einem Gemisch, das zu $^9/_{10}$ aus normalem Harn, zu $^1/_{10}$ aus Harn III bestand. Dies scheint aber die Grenze zu sein; bei noch stärkerer Verdünnung ist der Alkoholauszug zwar auch noch röthlich gefärbt, giebt aber keine deutlichen Absorptionsstreifen mehr. Ebenso fällt natürlich die Probe bei normalem Harn negativ aus.

Auch die Fällung mit Chlorcalcium + NH_3 oder Na_2CO_3 ist anwendbar, schien mir jedoch weniger fein.

Für einen noch geringeren Gehalt an Hämatoporphyrin geht man zweckmässiger vom Bleiniederschlag aus. In 240 cbcm. normalen Harns, welcher mit 10 cbcm. des Harns III versetzt worden war, gelang der Nachweis auf folgendem Wege:

Der Harn wurde mit basischem Bleiacetat völlig ausgefällt, der Niederschlag abfiltrirt, mehrmals mit Wasser, dann einmal mit Alkohol absolutus gewaschen, dann mit starkem salzsäurehaltigem Alkohol in der Reibschaale verrieben, nach einigen Stunden filtrirt. Das dunkelgefärbte Filtrat, dessen Quantität durchschnittlich 30 cbcm. betrug, wurde mit Ammoniak neutralisirt, dann mit alkalischer Barytlösung vollständig ausgefällt, der Barytniederschlag wie vorher behandelt. Das Volumen des salzsauren Alkoholauszugs ist möglichst gering einzurichten, es darf nicht mehr wie einige Cubikcentimeter betragen.

Normaler Harn ergiebt, so behandelt, kein Hämatoporphyrin, über pathologische Harne, z. B. Fieberharne, habe ich keine Erfahrungen, es dürfte sich aber wohl der Mühe lohnen, namentlich gewisse Fieberharne darauf zu untersuchen, die sich durch ihre gelbrothe Farbe auszeichnen, ohne dass

man in ihnen einen entsprechend hohen Gehalt an Urobilin findet. Mir standen solche Harne nicht zur Verfügung.

Um zu einer Vorstellung zu gelangen, wie viel Hämatoporphyrin etwa in den pathologischen Harnen enthalten sein könnte, wie weit also die Möglichkeit des Nachweises geht, verfuhr ich folgendermassen:

100 cbcm. des Harns I[1]), welcher durch Erhitzen im Dampfstrom sterilisirt und im Kolben mit Watteverschluss aufbewahrt worden war, wurden mit Chlorcalciumlösung völlig gefällt und mit Natriumcarbonat leicht alkalisirt, filtrirt. Das dunkelgelbe Filtrat zeigte keine Absorptionsstreifen. Der Niederschlag wurde so lange mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser sich chlorfrei erwies, dann mit Alkohol absolut. gewaschen, der Niederschlag durch Aufgiessen von salzsäurehaltigem Alkohol gelöst, das alkoholische Filtrat mit Wasser versetzt, mit Ammoniak neutralisirt, filtrirt. Das Filtrat war kaum gefärbt. Der Niederschlag wurde wieder bis zum Verschwinden der Chlorreaction mit Wasser gewaschen, dann mit Alkohol und Aether, über Schwefelsäure getrocknet, dann bei 110—120°. Das Gewicht des so aus 100 cbcm. erhaltenen Pulvers betrug 0,353 gr.

0,2676 gr.[2]) desselben hinterliessen bei anhaltendem Glühen 0,2016 gr. Rückstand, dessen Gewicht sich beim Abdampfen mit Ammoniumcarbonat und erneutem Glühen nicht merklich änderte. Die organische Substanz des Niederschlages betrug somit 0,0660 gr. = 24,7 %.

0,1444 gr. eines auf demselben Wege aus einer nicht näher bestimmten Quantität des Harns III dargestellten und bei 110—120° getrockneten Niederschlages gab 0,1116 unverbrennlichen Rückstand, enthielt also 22,7 % organische Substanz.

---

[1]) Von Harn III war leider keine hinreichende Quantität mehr vorhanden.

[2]) Es bedarf einer Erklärung, warum nicht die ganze Quantität des erhaltenen Niederschlages zur Bestimmung des Glühverlustes verwendet ist. Die Erklärung liegt darin, dass nach früheren Beobachtungen die Veraschung sehr schwer vollständig zu erreichen ist, wenn man nicht den Niederschlag vorher äusserst fein zerrieben hat.

In dem Niederschlage aus 100 cbcm. Harn I war somit 0,0871 gr. organische Substanz vorhanden, es konnte also keinenfalls mehr Hämatoporphyrin darin sein, da dieses durch das eingeschlagene Verfahren vollständig oder doch nahezu vollständig ausgefällt war[1]). In der angewendeten Mischung von 10 cbcm. Hämatoporphyrinharn und 240 cbcm. normalem Harn, in welchem das Hämatoporphyrin durch vorgängige Fällung mit basischem Bleiacetat noch nachweisbar war, war somit nicht mehr wie 0,0087 gr. Hämatoporphyrin enthalten oder 0,035 pro Mille.

Nicht ganz unerwähnt möchte ich lassen, dass sowohl in Harn I wie II[2]) noch Anzeichen eines zweiten abnormen Farbstoffs beobachtet wurden; auf diese Anzeichen stiess ich auf folgendem Wege:

Um zu einem phosphorsäurefreien Kalkniederschlag des Farbstoffs zu gelangen, versetzte ich 100 cbcm. Harn nach dem Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser mit Magnesiamischung: der entstehende Phosphatniederschlag fixirte nur sehr wenig Farbstoff. Das ammoniakalische Filtrat wurde mit Chlorcalcium und etwas Natriumcarbonat gefällt. Das Filtrat von diesem Niederschlage, das noch ziemlich stark gefärbt war, wurde mit Salzsäure genau neutralisirt, mit Chlorzink versetzt, dann mit Natriumcarbonat alkalisirt und erwärmt: es entstand ein grösstentheils aus Zinkcarbonat bestehender Niederschlag, welcher eine beträchtliche Quantität eines gelben Farbstoffs fixirte; ausgewaschen und getrocknet bildete dieser Zinkniederschlag ein feines rehfarbenes oder dunkelisabellfarbiges Pulver, das sich sowohl in Alkali (Natronlauge, Ammoniak), als auch in Salzsäure mit grosser Leichtigkeit löste. Die ammoniakalische Lösung zeigte keine Spur von Fluorescenz.

Bei der spectroscopischen Untersuchung zeigte die dunkelgelbe klare Natronlösung zwei schwache Absorptionsstreifen

---

[1]) Wenn man über eine hinreichende Quantität reinen Hämatoporphyrins verfügt, wird man natürlich ein colorimetrisches Verfahren vorziehen, resp. versuchen.

[2]) Harn III ist nicht nach dieser Richtung untersucht.

bei 100—102 und von 109—113. Der zweite Streifen war etwas besser begrenzt wie der erste, aber keineswegs scharf. Von 125 ab war das Spectrum absorbirt. Beim Ansäuern wurde die Lösung heller, der erste Streifen nur noch ganz schwach angedeutet, der zweite Streifen etwas nach Roth hin verschoben.

Ein in seiner Eigenschaft ganz gleicher Zinkniederschlag wurde aus Harn II erhalten, als der Harn direct mit Chlorcalcium + Na_2CO_3 gefällt und das Filtrat dann wie oben behandelt wurde.

Was den oben erwähnten Kalkniederschlag betrifft, so gelang es nicht, aus demselben eine nennenswerthe Quantität von Hämatoporphyrincalcium zu erhalten. Als der gut gewaschene Niederschlag, wie gewöhnlich, in verdünnter Salzsäure gelöst und die Lösung ammoniakalisch gemacht wurde, blieb ein grosser Theil des Farbstoffs in Lösung, nur wenig fiel aus. Beim Auswaschen dieses Niederschlages wurde das Waschwasser allmälig fast farblos, dann aber fing es an, sich mehr und mehr zu färben, so dass auf dem Filter schliesslich nur ein Minimum von Substanz übrig blieb. Das gefärbte Waschwasser gab mit Alkohol einen roth gefärbten Niederschlag. Möglicherweise eröffnen diese Wahrnehmungen einen Weg, zu einem reineren Präparat zu gelingen. Ohne ein grösseres Material würden indessen die Versuche aussichtslos sein.

Die vorstehenden Beobachtungen über das Vorkommen von Hämatoporphyrin im Harn sind nicht ganz isolirt. Allerdings ist das Hämatoporphyrin bisher nicht mit Sicherheit im Harn nachgewiesen, ja abgesehen von der allerneuesten Zeit das Vorkommen desselben im Harn auch nicht behauptet worden, es liegen aber doch Beobachtungen über roth gefärbte Harne vor, in welcher die rothe Färbung aller Wahrscheinlichkeit nach durch Hämatoporphyringehalt bedingt war, während von den Autoren selbst nur eine Aehnlichkeit, nicht aber Identität mit Hämatoporphyrin angenommen ist.

Zunächst hat, wie ich dem durch seine ausserordentliche Vollständigkeit ausgezeichneten Buche von Huppert[1]) entnehme, Neusser im Jahre 1881 zwei blutrothe Harne beobachtet, welche wahrscheinlich Hämatoporphyrin enthielten. Was die Abweichungen des fraglichen Harnfarbstoffs vom Hämatoporphyrin betrifft, so ist die wesentlichste die, dass Neusser's Farbstoff aus der sauren Alkohollösung (aus dem Bleiniederschlag erhalten) beim Schütteln mit Chloroform in dieses überging, während Hämatoporphyrin in Chloroform nicht löslich ist. Die Controllversuche, die ich daraufhin mit Harn III und II anstellte, hatten ein sehr auffälliges Resultat. Beide Harne wurden, da inzwischen alkalische Reaction eingetreten war (bei III nur sehr schwach), mit Salzsäure genau neutralisirt, dann mit basischem Bleiacetat gefällt. Die ausgewaschenen Bleiniederschläge wurden in je einem Versuch mit schwefelsäurehaltigem Alkohol ausgezogen, in einem andern mit salzsäurehaltigem. Das Ergebniss war folgendes:

1. Harn III. Aus dem schwefelsäurehaltigen alkoholischen Auszug nahm Chloroform beim Schütteln damit unter Wasserzusatz keinen Farbstoff auf, dagegen ging aus dem salzsäurehaltigen Auszug, welcher zufällig einen Tag gestanden hatte, reichlich Farbstoff in das Chloroform über. Dasselbe sah braunroth aus und zeigte die 4 Absorptionsstreifen des Hämatoporphyrins in neutraler Lösung.

2. Harn II. Weder aus dem salzsäurehaltigen, noch aus dem schwefelsäurehaltigen Auszug nahm Chloroform die geringste Spur Farbstoff auf.

Es kommen also unter anscheinend ganz gleichen Verhältnissen Abweichungen in dem Verhalten des Farbstoffs zu Chloroform vor, für die sich eine bestimmte Erklärung bisher nicht geben lässt. Wenn man den Alkoholauszug mit Chloroform vermischt, so tritt natürlich zuerst eine vollständige Durchmischung beider Flüssigkeiten ein: erst nach dem Zusatz von Wasser bilden sich zwei Schichten. Es ist nun wohl

[1]) Analyse des Harns, 9. Aufl., von Neubauer u. Vogel, 1889, S. 312; auch Maly's Jahresb. f. 1881, S. 188.

denkbar, dass der Alkoholgehalt des Chloroforms je nach der Reichlichkeit des Wasserzusatzes resp. schnellerem oder langsamerem Zusetzen von Wasser ein etwas wechselnder ist und sich so die Differenzen der Löslichkeit des Farbstoffs erklären. Wie dem nun aber auch sein mag, jedenfalls geht aus den mitgetheilten Beobachtungen hervor, dass auf vereinzelte Abweichungen in dem Verhalten des Farbstoffs zu Lösungsmitteln kein allzu grosses Gewicht gelegt werden darf.

Weiterhin hat Stokvis[1]) eine recht genaue Beschreibung eines dunkelrothen Harns, sowie des aus demselben durch Dialyse und Fällung mit Alkohol dargestellten Farbstoffs, namentlich bezüglich des Spectralverhaltens, geliefert. Stokvis hebt die Aehnlichkeit seines Farbstoffes mit Hämatoporphyrin hervor, spricht sich jedoch gegen die Identität aus und zwar vor Allem aus folgenden Gründen:

1. Das spectroscopische Verhalten weicht nicht unbetsächtlich von dem des Hämatoporphyrins ab, wie auch aus den von Stokvis gegebenen Abbildungen hervorgeht. 2. Der Farbstoff geht selbst nach dem Zusatz von Säuren nicht in Chloroform, Amylalkohol und andere Lösungsmittel über, was Hämatoporphyrin nach Stokvis leicht thut. 3. Der Farbstoff, durch Dialyse und Alkoholfällung dargestellt, ist leicht löslich in Wasser, während Hämatoporphyrin in Wasser unlöslich ist.

Dagegen lässt sich nun Folgendes einwenden:

1. Was den ersten Punkt betrifft, so muss hervorgehoben werden, dass das Spectrum des ursprünglichen Harns (bei Stokvis), abgesehen von der mangelnden Abgrenzung des 4. Streifens nach dem Violet hin, vollständig mit dem einer neutralen oder essigsauren Lösung von Hämatoporphyrin übereinstimmt. Das Spectrum des angesäuerten Harns zeigt allerdings abweichend von den gewöhnlichen Angaben für das Hämatoporphyrin nicht zwei Streifen, sondern drei, nämlich noch einen schmalen Streifen zwischen den beiden der

---

[1]) Over twe zeldsame kleurstoffen in urine van zieken. Nederl. Tijdschr. von Geneesk, 1889, II, S. 413.

Regel nach angegebenen. Wie schon bemerkt, giebt aber Stokvis an, dass auch das saure Hämatoporphyrin nicht zwei Streifen zeige, wie alle Autoren angeben, sondern in verdünnten Lösungen drei; ich habe gleichfalls schon oben bemerkt, dass man auch meiner Ansicht nach wohl von einem dritten Streifen sprechen kann, welcher sich dem zweiten breiten Streifen unmittelbar (an der nach dem Roth hin gerichteten Seite) anschliesst. Ich will noch hinzufügen, dass man an verdünnten Lösungen öfters eine wesentliche Verstärkung des linken Randes (nach Roth hin) dieses schwachen Absorptionsbandes bemerkt, so dass dann in der That das Bild entsteht, welches Stokvis anf seiner Tafel unter B als das des Harns, mit Salzsäure angesäuert, abbildet, nur mit dem Unterschied, dass die schwache Absorption, welche zwischen seinem zweiten und dritten Streifen liegt, in die Abbildung nicht aufgenommen ist. Was das spectroscopische Verhalten der von ihm dargestellten Farbstofflösungen betrifft, so ist es allerdings wesentlich abweichend, allein hier ist die Möglichkeit der Veränderung des «sehr delicaten» Hämatoporphyrins nicht von der Hand zu weisen.

2. In Bezug auf den zweiten Punkt muss ich den Angaben von Stokvis auf Grund von Versuchen mit Nencki's Hämatoporphyrin widersprechen. In Chloroform ging dieses aus angesäuerter wässriger Lösung gar nicht, in Amylalkohol sehr schwer und langsam über. Entgegen der Ansicht von Stokvis sehe ich in dem Verhalten seines Farbstoffes zu Lösungsmitteln einen Grund mehr für die Identität desselben mit Hämatoporphyrin, und nicht dagegen.

3. Die abweichende Löslichkeit des Farbstoffs in Wasser ist schon oben besprochen: sie findet ihre Erklärung leicht darin, dass der Farbstoff im Harn als Alkaliverbindung enthalten und durch Alkohol als solche niedergeschlagen wird.

Endlich erhalte ich, eben mit der Zusammenstellung meiner Beobachtungen beschäftigt, Kenntniss von einer Mittheilung von J. E. Ranking und G. L. Pardington: Two cases of haemoporphyrin in the urine, The Lancet, 1890, II,

No. XII, S. 607. Diese Autoren beobachteten in zwei Fällen bei Frauen, von denen der eine tödtlich verlief, die Entleerung eines dunkelroth gefärbten, blutfreien Urins. Ueber die Natur dieses Farbstoffs äussern sich Russel, der nur den Urin des ersten Falles untersucht hat, einerseits, und Copeman und Mac Munn, welche beide Urine untersucht haben, andererseits, etwas verschieden.

Russel berichtet nur kurz: «Der Farbstoff ist augenscheinlich Hämatoporphyrin, das Spectrum desselben stimmt mit dem des Urins überein.»

Copeman und Mac Munn berichten, dass die Flüssigkeit ein Spectrum mit 4 oder 5 (sic!) Absorptionsstreifen gab, welches durch Ammoniak und Schwefelammon nicht geändert wurde, während verdünnte Schwefelsäure es in das Spectrum des sauren Hämatoporphyrins umwandelte. Die Absorptionsstreifen stimmten nicht ganz mit denen des Hämatoporphyrins überein, andererseits ist es auch nicht identisch mit dem von Mac Munn beschriebenen Urohämatoporphyrin.

Die Identität auch dieses Farbstoffs mit Hämatoporphyrin scheint mir kaum zweifelhaft.

Schliesslich noch ein Wort über die klinische Bedeutung der «Hämatoporphyrinurie». Bei der nahen Beziehung des Hämatoporphyrins zum Blutfarbstoff liegt der Gedanke nahe, dass die Ausscheidung erheblicher Quantitäten von Hämatoporphyrin für den Organismus nicht gleichgültig sein möchte, mag man nun mit Nencki und Sieber annehmen, dass das Hämatoporphyrin normaler Weise zum Aufbau des Blutfarbstoffs dient, oder dass, wie diese Autoren gleichfalls andeuten, Hämoglobin in der Leber unter Bildung von Hämatoporphyrin zerfallen kann. Welche Annahme man auch macht, in jedem Fall bedeutet die Ausscheidung von Hämatoporphyrin einen Verlust des Organismus an Blutfarbstoff. Ob dieser Verlust so bedeutend ist, dass er für den Organismus in Betracht kommt, lässt sich an der Hand einer Ueberschlagsrechnung wohl entscheiden.

Auf Grund der oben angeführten ungefähren Bestimmungen des Hämatoporphyrins kann man annehmen, dass

der Harn in 100 cbcm. ungefähr 0,087 gr. Hämatoporphyrin enthält. Die tägliche Ausscheidung wird mit 0,87 gr. nicht zu hoch angenommen sein. Dem Hämatoporphyrin entspricht nach der von Nencki und Sieber angegebenen Umsetzungsgleichung annähernd dieselbe Quantität Hämatin. Da das Hämatin rund 9 % Eisen enthält, das Hämoglobin nur 0,42 %, so entsprechen 0,87 gr. Hämatoporphyrin etwa 18,5 gr. Hämoglobin. Den ganzen Hämoglobinvorrath kann man bei einem Individuum von 60—70 Kilo Körpergewicht auf etwa 600 gr. veranschlagen. Es würde also täglich etwa 1/32 des Hämoglobinvorrathes ohne Ersatz zu Grunde gehen. Das ist allerdings kein sehr erheblicher Antheil, allein er fällt bei längerer Dauer der Hämatoporphyrin-Ausscheidung doch in's Gewicht, um so mehr, als die Affection nach den bisherigen Beobachtungen nur weibliche Individuen betrifft, deren Hämoglobinvorrath mit 600 gr. wohl etwas zu hoch veranschlagt sein möchte.

Mag nun der Verlust an Blutfarbstoff direct als Schädigung für den Organismus in Betracht kommen oder nicht, jedenfalls geht aus den bisherigen Beobachtungen hervor, dass die Hämatoporphyrinurie für das davon betroffene Individuum eine sehr ernstliche Erscheinung ist.

Berücksichtigt man nur die in neuester Zeit beschriebenen Fälle, so endete der von Stokvis beschriebene tödtlich, ebenso einer der beiden Fälle der englischen Autoren und einer der drei Fälle von Dr. Jastrowitz. Es sind also im Ganzen von sechs Fällen drei tödtlich verlaufen. College Jastrowitz theilte mir nun mit, dass in allen drei von ihm beobachteten Fällen, welche gleichfalls ausschliesslich weibliche Individuen betrafen, Sulfonal in den gewöhnlich üblichen Dosen gebraucht worden war, ferner, dass beim Aussetzen des Sulfonals der Urin wieder die gewöhnliche Farbe annahm, endlich dass, als in einem dieser Fälle der Gebrauch des Sulfonals wieder aufgenommen wurde, der Harn sich auf's Neue dunkel färbte. Diese Beobachtungen machen es sehr wahrscheinlich, dass die Entleerung dunkelbraunrothen Harns mit dem Sulfonalgebrauch in ursächlichem Zusammenhang steht, um

so mehr, als in diesen drei Fällen auch anderweitige abnorme Wirkungen des Sulfonals zur Beobachtung kamen, nämlich sehr starke Erscheinungen von Seiten des Digestionstractus (namentlich Stuhlverstopfung), Herzschwäche, allgemeine Schwäche und in einem Falle eine ausgesprochene Lähmung der Extensoren des Vorderarms, genau so, wie bei Bleilähmung. Da ganz dasselbe Sulfonal bei einer Reihe anderer Individuen, die es gleichzeitig erhielten, durchaus keine abnormen Wirkungen verursachte, so muss man annehmen, dass es sich in diesen drei Fällen um eine Idiosynkrasie gegen Sulfonal handelte, um eine abnorme Wirkung des Sulfonals, welche mit Zerfall von Hämoglobin unter Bildung von Hämatoporphyrin einhergeht.

Die Annahme, dass die Hämatoporphyrinurie in ursächlichem Zusammenhang mit dem Sulfonalgebrauch steht, gewinnt an Wahrscheinlichkeit noch weiter durch den Umstand, dass auch in dem Fall von Stokvis Sulfonal in Dosen von 1 gr. einige Tage gebraucht war, während allerdings in den beiden Fällen von Ranking und Pardington Gebrauch von Sulfonal nicht erwähnt ist[1]), und von Arzneimitteln nur im ersten Fall Acetanilid in Betracht kommt, von welchem einmal innerhalb 4 Stunden 20 grains eingenommen wurden.

Ob die Hämatoporphyrin-Ausscheidung nur eine Begleiterscheinung der abnormen Sulfonalwirkung ist oder mit dem tödtlichen Ausgang in directem Zusammenhang steht, d. h. ob das im Blut circulirende Hämatoporphyrin selbst deletär wirkt, muss vorläufig, so lange noch keine weiteren Beobachtungen vorliegen, unentschieden bleiben. Es liegt sehr nahe, zur Klärung Versuche mit Hämatoporphyrin an Thieren anzustellen. Derartige Versuche liegen bereits vor. Sie sind von Nencki und Sieber an zwei Kaninchen und einem Hund angestellt worden in der Absicht, das Verhalten des Hämatoporphyrins im Organismus kennen zu lernen. Von den

---

[1]) Ob man daraus schliessen kann, dass es nicht gebraucht ist, steht freilich dahin.

Kaninchen erhielt eines 0,4 gr., das zweite 1,5 gr. des Natriumsalzes subcutan. In beiden Fällen enthielt der Harn Hämatoporphyrin, das erste Thier blieb gesund, das zweite starb am 3. Tage. Der Harn dieses Thieres enthielt gleichzeitig Urobilin und Eiweiss. Der Hund — von 13 Kilo Körpergewicht — erhielt 0,7 gr. Hämatoporphyrin per os: der Harn enthielt kein Hämatoporphyrin, eine Allgemeinwirkung ist nicht angegeben, augenscheinlich also auch nicht vorhanden gewesen. — Nach diesen Versuchen scheint allerdings das Hämatoporphyrin, wenn überhaupt, nur in ausserordentlich grossen Dosen giftig zu sein. Allein zwingend ist dieser Schluss keineswegs. Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass die an einer Thierspecies gewonnenen Erfahrungen nicht ohne Weiteres auf eine andere Species, also auch nicht auf den Menschen, übertragen werden dürfen. Für die Möglichkeit, dass eine Substanz auf den Menschen unendlich viel stärker wirken kann als auf Versuchsthiere, giebt es wohl kein schlagenderes Beispiel, als die Koch'sche Flüssigkeit gegen Tuberculose, von welcher nach Koch's Angaben Meerschweinchen 2 cbcm. subcutan ohne merkliche Beeinträchtigung vertragen, während 0,25 cbcm. beim Menschen schon bedrohliche Erscheinungen hervorrufen. Wir sind also für die weitere Klärung der Frage ganz vorwiegend auf weitere zufällige Beobachtungen von Menschen angewiesen, welche voraussichtlich jetzt, nachdem die Aufmerksamkeit auf die Ausscheidung von Hämatoporphyrin durch den Harn gelenkt ist, bei der Leichtigkeit des Nachweises des Hämatoporphyrins nicht ausbleiben werden. Der Umstand, dass in den Fällen von Ranking und Pardington kein Sulfonal gebraucht war, würde für eine giftige Wirkung des Hämatoporphyrins selbst sprechen.

Für die Anwendung des Sulfonals folgt aus den vorliegenden Beobachtungen, dass der Gebrauch desselben, namentlich bei weiblichen Individuen, dem Arzt die Pflicht auferlegt, auf die Farbe des Harns sorgfältig zu achten und dasselbe auszusetzen, sobald eine dunkle Färbung desselben eintritt. Ich bemerke dabei noch, dass nach persönlichen Mittheilungen von Jastrowitz der Harn zwar stark gefärbt

entleert wurde, aber doch bei Weitem nicht so dunkel, wie ich ihn erhielt, diese Färbung vielmehr erst beim Stehen an der Luft eingetreten war. Es scheint danach, dass wenigstens ein Theil des Hämatoporphyrins nicht als solches entleert wurde, sondern vermuthlich in Form eines Reductionsproductes, welches sich an der Luft allmälig zu Hämatoporphyrin oxydirte.

Herrn Collegen Jastrowitz sage ich für die freundliche Ueberlassung des Materials u. s. w. auch an dieser Stelle meinen besten Dank.

Ueber die chemische Zusammensetzung leukämischen Blutes.

Von

Dr. E. Freund und **Dr. F. Obermayer.**

(Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 23. Januar 1891.)

Der Leichenbefund eines grossen intermuskulären Hämatoms bot uns die seltene Gelegenheit, eine grosse Menge von leukämischem Blute zu acquiriren, die wir zu einer eingehenden Analyse verwendet haben, deren Resultate wir hier mittheilen wollen.

Der Fall betraf einen 31 Jahre alten Tischlermeister F. M., welcher am 10. December 1888 auf die Klinik Bamberger aufgenommen wurde.

Aus der Krankengeschichte, welche uns der damalige Leiter der Klinik, Herr Primarius Dr. E. Neusser, gütigst überliess, entnehmen wir, dass die Erkrankung sich innerhalb 2½ Jahren entwickelt hatte; bei der Aufnahme füllte die Milz die linke Hälfte des Abdomens bis zur Symphyse fast vollkommen, während die Leber die rechte Abdominalhälfte bis zum Nabel einnahm; vergrösserte Drüsen fanden sich nicht vor; Druck auf das Sternum war schmerzhaft.

Die mikroskopische Blutuntersuchung am 14. December, einen Tag nach dem ersten Auftreten des Hämatoms, ergab:

Hämoglobingehalt (Fleischl) . .	25%,
Rothe Blutkörperchen	1,012500,
Weisse Blutkörperchen	945,000,
Färbekraft	1,24.

Der Tropfen, der aus dem Einstich hervorquillt, ist blassziegelroth, dünnflüssig.

Das Hämatom, welches sich am 13. December einstellte, war zu dieser Zeit eine Geschwulst, welche sich von der Fossa supraspinata bis anderthalb Handbreiten unter den Angulus scapulae und von der Wirbelsäule bis zur Axillarlinie erstreckte. Dasselbe vergrösserte sich allmälig, so dass es beim Exitus

letalis eine verhältnissmässig grössere (weiter unten in dem Sectionsprotocoll verzeichnete) Ausdehnung erreichte.

Aus dem Sectionsprotocoll sei Folgendes hervorgehoben:

Körper gross, ziemlich kräftiger Knochenbau, stark abgemagert. In der rechten Achselhöhle eine mächtige, sich auf die Hinterflächen des Thorax bis zur Wirbelsäule und längs des medialen Randes des Schulterblattes bis in den Nacken ausbreitende Vorwölbung, die trotz starker Spannung Fluctuation zeigt; die Wölbung besteht aus einer Ansammlung einer rahmigen, grauröthlichen Flüssigkeit unter dem Musculus serratus und den zum Schulterblatt ziehenden Muskeln des Stammes. Die abhängigen Körperpartien, Hoden und Hinterbacken ödematös. Im Bauchraume circa ein halber Liter röthlich-gelben Serums. Die Gerinnsel in den Herzhöhlen und Blutgefässen von der Consistenz einer weichen Gallerte. Leber vergrössert (3900 gr.). Milz enorm vergrössert, die linke, seitliche Bauchgegend bis zur Nabelhöhe erfüllend. Lymphdrüsen im Gekröse erbsen- bis bohnengross, weich, succulent. Auf dem Durchschnitte durch das Brustbein erscheint das Markgewebe graugelblich, eiterähnlich, infiltrirt. Mark des rechten Femur eiterähnlich gelb, wie zerfliessend; stellenweise consistenter, blass rosa.

Leukämia lienalis et myelogenes.

Wiewohl das von uns zur Analyse verwendete Blut schon einige Zeit vor dem Exitus letalis aus den Gefässen ausgetreten war, so ist doch die Annahme gerechtfertigt, dass dasselbe noch keine wesentlichen Veränderungen erlitten hatte, denn es war noch vollkommen flüssig und zeigte bei der Bestimmung des Blutfarbstoffes mit dem Fleischl'schen Hämometer denselben Hämoglobingehalt, wie eine während des Lebens entnommene Blutprobe.

Es kam uns bei der Untersuchung besonders darauf an, die quantitativen Verhältnisse der organischen Hauptbestandtheile kennen zu lernen und eine vollkommene Analyse der Asche durchzuführen. Grösstentheils haben wir diese Untersuchungen nach den Angaben von Hoppe-Seyler ausgeführt. Mehrere Abweichungen, zu welchen uns unser eigenartiges Material nöthigte, sollen weiter unten erwähnt werden.

In der folgenden Tabelle sind die Resultate unserer Analyse mit den Untersuchungsergebnissen von normalem Blut (C. Schmidt und Becquerel-Rodier), sowie von Blut bei Chylurie und Melanosarcom (Hoppe-Seyler) zusammengestellt.

In 1000 Theilen Blut:

Leukämie.		Normal [C. Schmidt[1])].		Normal [Becquerel u. Rodier[2]).		Chylurie [Hoppe-Seyler[3])].		Melanosarcom [Hoppe-Seyler[4])].	
Wasser	895,8	Wasser	788,71	Wasser	779,0	Wasser	796,78	Wasser	793,36
Feste Stoffe	104,2	Feste Stoffe	211,29	Feste Stoffe	221,0	Feste Stoffe	203.22	Feste Stoffe	206,64
Eiweiss und Hämatin[5])	72,0	Eiweiss und Extractivstoffe	192,10	Eiweissstoff	76,0	Albumen	33,54	Albumen	59,16
				Faserstoff	2,2	Oxyhämoglobin	149,60	Oxyhämoglobin	129,70
Pepton	12,3	Faserstoff	3,93	Hämoglobin	134,5	Fett	1,70	Fett	2,31
Fett	7,1	Hämoglobin	7,38	Fett, Lecithin, Cholesterin	1,60	Lecithin	3,48	Lecithin	2,065
Lecithin	3,8	Salze	7,88			Cholesterin	1,58	Cholesterin	2,265
Cholesterin	2,1					Salze	6,98	Salze	5,01
Salze	9,8			Extractivstoffe u. Salze	6,80				

[1]) C. Schmidt, Charakt. d. epidem. Cholera, 1850.
[2]) Recherches sur la compos. du sang, 1844.
[3]) Hoppe-Seyler, Med.-Chem. Untersuchungen, S. 551, 1869.
[4]) Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. XV, Heft 2, S. 179.
[5]) Hämoglobin = 35,0 (aus dem Eisengehalt berechnet).

Gesammt-Stickstoff des nativen Blutes . .	1,35 %,
Stickstoff des enteiweissten Blutes	0,33 %,
Stickstoff des Peptons	0,13 %,
Stickstoff der Extractivstoffe	0,20 %.

Die oben angeführten Bestandtheile mit Ausnahme des Peptons wurden nach den in Hoppe-Seyler's Handbuch der physiologisch-chemischen Analyse, S. 423, angeführten Methoden ermittelt.

Für die Peptonbestimmung wurden 297,595 gr. Blut nach Schmidt-Mühlheim enteiweisst und das Filtrat auf 250 cm³. eingeengt; hiervon wurden 30 cm³. mit 1/8 Volumen Eisessig[1]) angesäuert, mit Phosphorwolframsäure ausgefällt und nach einer Stunde durch ein stickstofffreies Filter filtrirt, mit schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen, getrocknet und Niederschlag sammt Filter mit Kupferoxyd zur Stickstoffbestimmung nach Dumas verrieben.

Es wurden 65 cm³. Stickstoff bei 10,2° C. und 738 mm. Quecksilber = 0,0755 gr. Stickstoff erhalten.

Wenn nun der Stickstoffgehalt des Fibrinpeptons nach Maly mit 17,13 % angenommen wird, so entspricht der gefundene Stickstoff einer Menge von 3,67 gr. in 297,595 gr. Blut = 1,23 %.

Weitere 30 cm³. wurden ohne Ausfällung des Peptons — um den Stickstoffgehalt des enteiweissten Blutes kennen zu lernen — im Hofmeister'schen Schälchen mit Oxalsäure und Gyps getrocknet und die Stickstoffbestimmung nach Dumas durchgeführt. Dieselbe ergab 98,0 cm³. Stickstoff bei 6,4° C. und 751 mm. Quecksilber = 0,1188 gr. Stickstoff. Dies entspricht einem Stickstoffgehalt von 0,33 %.

Für die Bestimmung des Gesammtstickstoffes wurden 6,9246 gr. Blut mit Oxalsäure im Hofmeister'schen Schälchen getrocknet und der Stickstoffgehalt nach Dumas bestimmt; es wurden 80,0 cm³. Stickstoff bei 10,0° C. und 742,5 mm.

---

[1]) Wir verwendeten Eisessig mit Rücksicht auf die Angabe Neumeister's, dass in diesem Falle durch die Phosphorwolframsäure nur Pepton, nicht aber Kreatinin etc. gefällt werden.

Quecksilber = 0,09347 gr. Stickstoff = 1,35 % Stickstoff des Blutes erhalten.

Nachdem wir im enteiweissten Blute sowohl den Gesammtstickstoff als den Stickstoffgehalt des vorhandenen Peptons bestimmt hatten, ergab die Differenz dieser beiden Grössen jene Stickstoffmenge, welche anderen Bestandtheilen, wie Xanthinbasen etc., angehörte.

179,791 gr. Blut gaben 1,7759 gr. Asche; für die Special-Analyse wurden 99,182 gr. Blut mit 0,9797 gr. Asche (0,98 %) verwendet.

Die Untersuchung der Asche ergab:

Phosphorsäureanhydrid (P_2O_5)	0,1625
Schwefelsäureanhydrid (SO_3)	0,1182
Chlor	0,1712
Kali	0,1503
Natron	0,3698
Kalk	0,0045
Magnesia	0,0007
Eisenoxyd	0,215
	0,9987
Für 0,1712 Chlor abzuziehender Sauerstoff	0,0385
Aschenmenge aus den Einzelbestimmungen berechnet	0,9602
Aschenmenge direct gefunden	0,9797.

Die auf die direct gewogenen Aschenmengen berechneten Procentzahlen der einzelnen Bestandtheile, durch ihr Aequivalent-Gewicht dividirt, ergeben zur Controlle:

Aequivalente von Phosphorsäure	0,685
» » Chlor	0,517
» » Schwefelsäure	0,295
» » Kalk	0,016
» » Magnesia	0,003
» » Kali	0,319
» » Natron	1,193
Summe der Aequivalente der Basen	1,531
» » » » Säuren	1,497
Differenz	0,034.

Auf 100 Theile Asche berechnet:

	Leukämie.	Normal [1]).
Phosphorsäureanhydrid	16,92	8,82
Schwefelsäureanhydrid	12,31	7,11
Chlor	17,82	30,74
Kali	15,65	26,55
Natron	38,52	24,11
Kalk	0,47	0,90
Magnesia	0,07	0,53
Eisenoxyd	2,24	8,16
	104,00	106,92
Für Chlor abzuziehender Sauerstoff.	4,00	6,92
Summe. . . .	100,00	100,00

Diese Analyse wurde nach dem von A. Jarisch[2]) mitgetheilten Verfahren ausgeführt. Die Reaction der löslichen Asche war alkalisch. Die Farbe der Asche war auffallender Weise ganz weiss. Die nähere Untersuchung ergab, dass bei dem grossen Gehalte an Phosphorsäure alles Eisen an dieselbe gebunden war. Von der Trennung in lösliche und unlösliche Bestandtheile musste abgesehen werden, da das phosphorsaure Eisen durch das Filter ging. Aus diesem Grunde wurde die Asche mit Barytwasser wiederholt in der Platinschale abgedampft und nun von dem gebildeten phosphorsauren, schwefelsauren, kohlensauren Baryt und Eisenoxyd abfiltrirt. Im Filtrate wurde der Ueberschuss von Baryt mit Schwefelsäure genau ausgefällt und nun die Alkalien, Chlor, Kalk, Magnesia und Phosphorsäure in gewöhnlicher Weise bestimmt. Nachdem der unlösliche Theil mit Salzsäure behandelt worden war, wurde von dem schwefelsauren Baryt abfiltrirt, der überschüssige Baryt mit Schwefelsäure ausgefällt und die Phosphorsäure nach Zusatz von Eisenchlorid als

[1]) Mittel aus 4 Analysen normalen Menschenblutes von A. Jarisch. Med. Jahrb., 1877, Heft 1.

[2]) A. Jarisch, Untersuchungen über die anorg. Bestandtheile des Blutes, Med. Jahrbücher 1871.

phosphorsaures Eisen abgeschieden, mit kohlensaurem Natronkali aufgeschlossen und die Phosphorsäure mit Magnesiamixtur gefällt. Die Eisenbestimmung wurde zweimal in zwei Blutportionen durchgeführt.

Indem wir zur Besprechung der Resultate der Analyse übergehen, sei zunächst die Verminderung der festen Stoffe hervorgehoben. Dieselbe Thatsache wurde von Robertson[1]), Parkes[2]), Becquerel[3]), Laveran[4]) constatirt; während aber in den Fällen dieser Autoren das Minimum 19 % betrug, war es in unserem Falle 10 %.

Ueber den Albumingehalt des leukämischen Blutes liegen bisher keine bestimmten Angaben vor. Wir erhielten 7,2 % gegen 19 % bei normalem Blute [Carl Schmidt[5])].

Die Untersuchung auf Pepton ergab einen Gehalt von 1,2 %. Diese Substanz wurde bekanntlich zuerst von E. Ludwig[6]) im leukämischen Blute nachgewiesen.

Bockendahl und Landwehr[7]) haben in 500 cm^3. leukämischen Blutes, welches sich in die Bauchhöhle ergossen hatte, 13,7 gr., i. e. 2,6 % Pepton gefunden. Dieser Werth für Pepton ist aber zu hoch, da diese Forscher das enteiweisste Blut mit Alkohol fällten und den Niederschlag als Pepton wogen, ohne die Salze zu berücksichtigen.

Fett, Lecithin und Cholesterin wurden bisher quantitativ nicht bestimmt. Unsere Analyse ergab eine bedeutende Vermehrung gegenüber der Norm[8]).

Bei dem Vergleiche der zwei vorhin citirten, von Hoppe-Seyler ausgeführten Blutanalysen mit der unsrigen tritt die bedeutende Vermehrung der erwähnten Bestandtheile erst deutlich hervor, wenn man berücksichtigt, dass im leukämischen

---

1) Siehe Mosler, Path. und Therapie der Leukämie, Berlin 1872.

2) Ebenda.

3) Ebenda.

4) Ebenda.

5) Loc. cit.

6) E. Ludwig, Anzeiger der Gesellschaft d. Aerzte, 1882, No. 13.

7) Virchow's Archiv, Bd. 84, S. 561—567.

8) 207,725 gr. Blut ergaben uns: 2,7067 gr. Aetherrückstand, bestehend aus 0,4341 gr. Cholesterin, 0,7980 gr. Lecithin und 1,4746 gr. Fett.

Blüte nur der fünfte Theil der normalen rothen Blutkörperchen und die Hälfte des festen Rückstandes vorhanden war. Bezieht man den Fett-, Lecithin- und Cholesteringehalt auf den Trockenrückstand, so ergeben sich folgende Zahlen:

Auf 100 gr. feste Stoffe entfallen:

	Leukämie.	Chylurie.	Melanot. Sarcom.
Fett.	**6,81**	0,83	1,11
Lecithin	**2,74**	1,71	0,99
Cholesterin	**2,01**	0,77	1,09

Kohlehydrate konnten wegen allzu geringer Menge nicht quantitativ bestimmt werden. Bei dem Umstande, dass das Blut der Leiche entnommen war, können wir diesem Befunde keine Bedeutung beilegen.

Auf den quantitativen Nachweis von Xanthin, Hypoxanthin etc. mussten wir verzichten, da zur exacten Bestimmung dieser Körper das Material nicht ausreichte.

Was die Asche anbelangt, so weist sie in allen ihren Bestandtheilen Differenzen gegenüber der Norm auf. Kalium und Chlor, sowie Calcium und Magnesium sind vermindert, Natrium und Phosphorsäure sind vermehrt. Von der Phosphorsäure entfallen 0,07 gr. auf Lecithin. Eisen findet sich entsprechend dem Hämoglobingehalte.

Die erwähnten Differenzen dürften zum grössten Theile auf die geänderte histologische Beschaffenheit, den geringen Gehalt an rothen, den vermehrten an weissen Blutkörperchen zurückzuführen sein. Für diese Annahme spricht der Vergleich mit Analysen[1]) von Eiter, speciell von Eiterkörperchen,

[1]) Dieselben sind einer noch nicht abgeschlossenen Untersuchung von Obermayer, «Ueber die Veränderung der Aschenzusammensetzung der Gewebe bei dem eitrigen Zerfalle», entnommen. Der Mastitis-Eiter ist als Prototyp des guten Eiters vorangesetzt. Die Analyse von Congestions-Abscess-Eiter (Hoppe-Seyler) haben wir zum Vergleiche nicht herangezogen, da Körperchen und Serum getrennt analysirt sind und das relative Verhältniss beider nicht angeführt ist.

die ja histologisch den weissen Blutkörperchen sehr nahe stehen und ebenfalls einen reichlichen Gehalt an Pepton[1], Fett, Lecithin, Cholesterin im organischen Theil, ein Ueberwiegen von Kalium und Phosphorsäure gegenüber Natrium und Chlor in der Asche aufweisen. Zum Vergleiche mögen folgende zwei Eiteraschen-Analysen dienen:

In 100 Theilen Asche:

	Mastitis.	Empyem.
Phosphorsäureanhydrid	24.12	13.21
Schwefelsäureanhydrid	4.27	3.33
Chlor	20.09	34.07
Kali	3.64	3.06
Natron	40,46	43.69
Phosphorsaurer Kalk . . . . . . / Phosphorsaure Magnesia . . . . . / Phosphorsaures Eisen	5.49	5,53

[1]) Neumeister, Zeitschrift f. phys. Chemie. Bd. IV, S. 258.

Zur Kenntniss des Paraxanthins.

Von

Dr. Georg Salomon, Privatdocenten in Berlin.

(Der Redaction zugegangen am 29. Januar 1891.)

Wenn man einen Paraxanthinkrystall vorsichtig erhitzt, so verliert er allmälig seinen Glanz und nimmt ein trübes, weissliches Aussehen an. Diese Erscheinung, welche auf Wasserverlust deutet, steht in scheinbarem Widerspruch mit meiner früheren Angabe, dass das Paraxanthin kein Krystallwasser enthält[1]). Ich habe deshalb die bezüglichen Untersuchungen an zwei verschiedenen Präparaten wiederholt und bin zu dem Ergebniss gelangt, dass das Paraxanthin sowohl mit als ohne Wasser krystallisiren kann.

Präparat I, aus heissem Wasser frisch umkrystallisirt, bestand aus feinen seidenglänzenden, dicht verfilzten Nadeln. 0,7675 gr. (lufttrocken) verminderten sich bei 120—130°[2]) auf 0,7659, bei allmäliger Steigerung bis 162° auf 0,7647 (Gewichtsverlust 0,0028 gr.). Bei noch höheren Temperaturen (170—180°) trat Sublimation ein und das Gewicht sank rasch auf 0,7592. Eine Trübung der Krystalle wurde während der ganzen Procedur nicht bemerkt.

Präparat II bestand aus wohlausgebildeten prismatischen und tafelförmigen Krystallen von starkem Glanz und leicht

---

[1]) Vergl. die Arbeit des Verfassers: Ueber das Paraxanthin, einen neuen Bestandtheil des normalen menschlichen Harns, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. VII, Suppl.-Heft (1884), S. 72.

[2]) Das Präparat vom Jahre 1884 war nicht über 110° erhitzt worden.

gelblicher Färbung. 0,2063 gr. verminderten sich bei 120—130° auf 0,1953; bei höheren Temperaturen bis 168° blieb das Gewicht constant (Abnahme 0,0110 gr.). Erst bei weiterer Steigerung bis 190° sank das Gewicht in Folge von Sublimation auf 0,1793. Von Anfang an hatte sich der grössere Theil der Krystalle getrübt, während andere selbst bei den höchsten Temperaturgraden glatt und glänzend geblieben waren.

Es ergiebt sich, dass Präparat I frei von Krystallwasser, Präparat II trotz seines ziemlich homogenen Aussehens aus wasserhaltigen und wasserfreien Krystallen gemischt war. Eine Krystallwasserbestimmung war natürlich unter diesen Umständen nicht möglich. Der Gewichtsverlust von 0,0110 entspricht 5,3%; $C_7H_8N_4O_2 + H_2O$ würde 9,09% verlangen.

Wie man es anzufangen hat, um wasserhaltige Krystalle zu erhalten, weiss ich nicht anzugeben; sicher ist nur, dass die vollkommenen zur Messung geeigneten Exemplare, unter ihnen also wohl auch die wasserhaltigen, am häufigsten bei langsamer Krystallisation, besonders bei Rohkrystallisationen entstehen. Die wasserfreie Form des Paraxanthins bildet sich vermuthlich regelmässig, wenn man concentrirte heisse Lösungen rasch krystallisiren lässt; wenigstens bekommt man auf diese Weise statt ausgebildeter Krystalle immer jene Nadelbüschel, von denen oben die Rede war. Das Präparat, welches ich vor 7 Jahren auf Krystallwassergehalt untersuchte, war ebenfalls aus concentrirter wässriger Lösung nadelförmig ausgeschieden.

Der Trübungspunkt des Paraxanthins wurde an mehreren Krystallen des zweiten Präparats geprüft und auf 110° festgestellt.

Berlin, chemisches Laboratorium des pathologischen Instituts.

Ueber die Verseifung von Estern durch Natriumalkoholat.

Von

A. Kossel und **M. Krüger.**

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 10. Februar 1891.)

Vor Kurzem hat Einer von uns in Gemeinschaft mit Herrn K. Obermüller ein Verfahren mitgetheilt[1]), welches die Verseifung der Fette auf kaltem Wege bezweckt und welches in gewissen Fällen Vortheile vor der gebräuchlichen Methode bietet. Das Verfahren besteht in der Einwirkung von Natriumalkoholat auf die Ester der fetten Säuren. Wir haben die genannte Reaction einem genaueren Studium unterworfen, um die Theorie dieses Vorganges kennen zu lernen und um seine Anwendbarkeit bei der Analyse der Thier- und Pflanzenfette darzuthun.

Wie aus der früheren Mittheilung hervorgeht, ist das eine Endproduct dieser Reaction die Natriumverbindung der in dem Ester enthaltenen fetten Säure. Wir müssen nach unseren Versuchen hinzufügen, dass das andere Endproduct der aus dem Ester hervorgehende Alkohol ist, welcher nicht etwa in Form einer Verbindung, sondern in freiem Zustand abgespalten wird. Man kann den Beweis dafür erbringen, indem man den aus dem Wallrath dargestellten Palmitinsäure-Cetylester in ätherischer Lösung und in der Kälte der Einwirkung von Natriumalkoholat überlässt; durch Extraction des Reactionsproducts mit Aether gewinnt man reinen Cetylalkohol, während palmitinsaures Natron zurückbleibt.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XIV, S. 599.

Um über den Verlauf der Reaction und über die Bildung etwaiger Zwischenproducte Aufklärung zu erhalten, wählten wir für unsere weiteren Versuche zunächst den Salicylsäure-Phenylester (Salol), dessen Zersetzungsproducte leicht nachzuweisen sind.

Eine ätherische Lösung von 20 gr. Salol wurde mit einer Lösung von Natriumalkoholat (1 Mol. Salol auf 2 Mol. Alkoholat) bei Zimmertemperatur digerirt, nach kurzer Zeit schieden sich kugelige Aggregate von seidenglänzenden Nadeln ab und allmälig erstarrte die ganze Flüssigkeit zu einer Krystallmasse von gleicher Beschaffenheit. Dies Product wurde mit etwa 1 Liter Wasser unter Zusatz einer grösseren Menge von Aether versetzt, es trat langsam eine Lösung ein. Man trennte die wässerige Lösung ab und extrahirte die Aetherschicht so lange mit erneuten Mengen Wasser, bis das letztere keine alkalische Reaction mehr annahm und keine Salicylsäure mehr löste. Die ätherische Lösung hinterliess nach der Entfernung des Aethers eine wasserhelle Flüssigkeit, welche zwischen 210 und 228°, hauptsächlich bei 225°, überdestillirte. Im Kölbchen hinterblieb ein kohliger Rückstand. Die bei 225° übergehende Flüssigkeit ergab bei der Analyse folgende Zahlen, welche dem Salicylsäure-Aethylester entsprechen, dessen Siedepunkt bei 223° liegt:

	Gefunden:	Berechnet für $C_9H_{10}O_3$.:
C	65,27	65,1
H	6,37	6,02

Ein Theil der Substanz wurde mit wässerigem Alkali verseift und im Destillat des Verseifungsproducts Alkohol durch die Jodoform-Reaction nachgewiesen, andererseits konnte Salicylsäure mit Sicherheit erkannt werden. Es unterlag somit keinem Zweifel, dass der Phenylester der Salicylsäure durch das Natriumalkoholat in den Aethylester umgewandelt war.

In derselben Weise konnte durch die Einwirkung von Natriumamylalkoholat auf das Salol der Amylester der Salicylsäure erhalten werden. Beim Stehen der Lösung von Salol mit einer Lösung von Natrium in Amylalkohol schied sich

nur wenig ab. Die Lösung wurde in Wasser gegossen und mit Aether durchgeschüttelt, die ätherisch-alkoholische Flüssigkeit noch mehrere Mal mit Wasser extrahirt, der Rückstand nach Entfernung des Aethers der Destillation unterworfen. Bei 263—269 (uncorr.) ging ein Oel über, welches als der Salicylsäure-Amylester erkannt wurde. Das Oel zeigte beim Verseifen mit 10procentiger wässeriger Natronlauge auf dem Wasserbade deutlich den Geruch nach Amylalkohol, auch die Salicylsäure liess sich als Zersetzungsproduct nachweisen. Neben diesem Ester wurde in der wässerigen, mit Aether ausgeschüttelten Lösung noch freie Salicylsäure und Phenol in reichlicher Menge nachgewiesen.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass das Natriumalkoholat den Ester spaltet unter Bildung von Salicylsäure, Phenol und von dem Salicylsäure-Ester des betreffenden Alkyls. Wir wurden durch diese Resultate auf einige von Claisen mitgetheilte[1]) Versuche und Deductionen hingewiesen, welche ein Licht auf die ganze Reaction zu werfen scheinen.

Claisen erhielt bei der Einwirkung von Natriummethylat auf Benzylbenzoat und ebenso bei der Einwirkung von Natriumbenzylat auf Methylbenzoat eine Krystallmasse, welche unter der Einwirkung von Eisessig in Methylalkohol, Benzylalkohol, Methylbenzoat und Benzylbenzoat zerfiel. Claisen nimmt an, dass in diesen beiden Fällen eine Orthobenzoylverbindung von folgender Constitution entstehe, welche unter Bildung der genannten Producte zerfalle:

$$C_6H_5 \cdot C \begin{matrix} ONa \\ OCH_3 \\ OC_7H_7 \end{matrix}$$

Diese Anschauung würde die von uns bezüglich des Salols gefundenen Thatsachen erklären, man hätte die intermediäre Bildung folgender Verbindungen anzunehmen:

$$C_6H_4OHC \begin{matrix} ONa \\ OC_2H_5 \\ OC_6H_5 \end{matrix} \text{ und } C_6H_4OHC \begin{matrix} ONa \\ OC_5H_{11} \\ OC_6H_5 \end{matrix}$$

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 20, S. 646.

Wenn diese Auffassung richtig und auf die zwischen dem Natriumalkoholat und den Fetten stattfindende Reaction anwendbar ist, so müsste sich zunächst ein Additionsproduct aus dem Fett und dem Natriumalkoholat bilden, welches später unter Bildung von Glycerin und Fettsäureäthylester zerfiele. Wir haben dieses Additionsproduct bisher weder bei den Versuchen mit Salol noch bei der Einwirkung des Alkoholats auf Fette nachweisen können. Wenn man den bei der Einwirkung des Natriumalkoholats auf Fette entstehenden amorphen Niederschlag abfiltrirt, ihn über Schwefelsäure im Vacuum trocknet und dann mit Aether auszieht, so bleibt ein in Aether unlöslicher Rückstand, welcher sich klar in Wasser löst, also keinen Ester enthält. Löst man den Niederschlag in warmem Alkohol und untersucht man die aus dem Alkokol sich ausscheidende Masse, so erhält man analytische Resultate, welche beweisen, dass der Niederschlag nur aus Seifen besteht. Ein in dieser Weise aus Wallrath dargestelltes Product enthielt 8,4% Na, palmitinsaures Natron verlangt 8,27% Na. — Wenn also überhaupt bei der Einwirkung von Natriumalkoholat auf Fette die Bildung eines intermediären Additionsproducts stattfindet, so kann dies Product nur ein sehr unbeständiges sein.

Wir beobachteten bei diesen Reactionen unter gewissen Verhältnissen einen Körper, dessen Auftreten mit der Entstehung eines Additionsproducts im Sinne Claisens leicht in Zusammenhang gebracht werden kann — nämlich den Aethylester der in dem Fett enthaltenen Fettsäure. Die Bildung dieses Esters entspricht auch der Bildung des Aethylsalicylats aus Salol.

33 gr. Hammeltalg wurden in 150—200 cbcm. Alkohol gelöst, mit Natriumalkoholat (enthaltend 3 gr. Natrium) versetzt und eine Viertelstunde auf dem Wasserbade erhitzt, beim Erkalten erstarrte die ganze Flüssigkeit. Das Reactionsproduct wurde mit viel Wasser übergossen, mit Aether versetzt, bis zur völligen Lösung durchgeschüttelt, der Aether abgetrennt und die Aether-Extraction noch einmal wiederholt. Nachdem der Aether von den vereinigten ätherischen Lösungen abdestillirt war,

hinterblieb ein in Wasser unlösliches, in Alkohol und Aether leicht lösliches Oel, welches bei Zimmertemperatur flüssig blieb, bei 6—8° unter Bildung langer Nadeln erstarrte. Diese Eigenschaften entsprechen denen der Aethylester, welche nach dem bekannten Verfahren durch Einleiten trocknen Salzsäure-Gases in die alkoholische Lösung der aus Hammeltalg gewonnenen Fettsäuren dargestellt waren (das durch Natriumalkoholat erhaltene Product war gleich im Anfang nahezu farblos, das durch Salzsäure dargestellte bräunlich gefärbt). Zum weiteren Nachweis wurde das Product der Alkoholatwirkung durch dreistündiges Erhitzen auf 150° mit wässeriger Natronlauge verseift, die Seifenlösung mit Salzsäure angesäuert, destillirt und im Destillat der Alkohol nachgewiesen. Die Bestimmung der Fettsäuren ergab folgendes Resultat:

1. 3,9592 gr. der Substanz gab 3,582 gr. Fettsäure, d. i. 90,55 %.
2. 4,1919 gr. der Substanz gab 3,7983 gr. Fettsäure, d. i. 90,61 %.

Palmitinsaures Aethyl enthält 90,14% Fettsäure. Stearinsaures Aethyl enthält 91,02% Fettsäure. Hiernach muss die Substanz als eine Mischung von palmitinsaurem und stearinsaurem Aethyl betrachtet werden. Aus 33 gr. Hammeltalg wurden 15 gr. der Aethylester gewonnen. Das erhaltene Gemenge der Aethylester enthielt keine nachweisbare Spur Asche. Die Ausbeute an Aethylester ist in verdünnten Lösungen eine grössere als in concentrirten, sie nimmt ab nach längerer Einwirkung des Natriumalkoholats, nach 12stündiger Einwirkung bei genügender Concentration ist kein Ester mehr nachweisbar.

In gleicher Weise konnten die im Hammeltalg enthaltenen Fette auch mit Natriumamylat umgesetzt werden. 33 gr. Hammeltalg lieferte hiebei 12,7 gr. der Amylester. Das Product war stark gelb gefärbt, bei gewöhnlicher Temperatur flüssig und erstarrte bei 6—8°. Durch Verseifung mit wässeriger Kalilauge bei 140° wurde Amylalkohol aus demselben erhalten.

Wie bereits in der ersten Mittheilung angeführt ist, kann die Verseifung der Fette und der übrigen Fettsäure-Ester mit

Natriumalkoholat für manche Darstellungen und Analysen verwerthet werden, weil der die Seife enthaltende Niederschlag eine compacte Beschaffenheit hat und durch Filtration leicht abzutrennen ist. Auf diese Weise kann man die neben den Fetten vorhandenen ätherlöslichen Stoffe (z. B. das Cholesterin) bequem gewinnen[1]). In gewissen Fällen kann diese Verseifung zur Entscheidung der Frage, ob eine zu untersuchende Substanz ein Ester sei oder nicht, mit herangezogen werden. Es lässt sich z. B. zeigen, dass das Lecithin durch Natriumalkoholat in der Kälte zerlegt wird, dass hingegen die Phosphorsäure des Protagons in der Benzollösung durch Natriumalkoholat nicht abgespalten wird, sie muss also in einer andersartigen Bindung enthalten sein. Ueber diese letztere Frage werden die Untersuchungen im hiesigen Laboratorium fortgesetzt.

Es wurde von M. Krüger eine Reihe von Versuchen ausgeführt, welche im Folgenden mitgetheilt sind, und welche sich hauptsächlich auf die Bedingungen bezogen, die für das Zustandekommen einer vollkommenen Verseifung nöthig sind. Ferner wurde von M. Krüger die Art der Ausführung von Fettsäure-Bestimmungen im Fett für praktische Zwecke genauer festgestellt und durch Controllanalysen geprüft. Die Versuche bezweckten hauptsächlich die Entscheidung folgender Fragen: 1. Kann die Verseifung vollständig in der Kälte zu Ende geführt werden? 2. Welches sind die anzuwendenden Mengen Alkohol und Natrium? 3. In welcher Zeit ist die Verseifung vollendet?

Die erste Frage ist schon durch die frühere Publication bejaht worden und die neueren Versuche bestätigen dies. Bei Anwendung einer Natriumalkoholatlösung, welche in 100 cbcm. 5 gr. Natrium enthielt, wurden die folgenden Resultate erhalten:

1. 5 gr. Ricinusöl mit 10 cbcm. Alkohol und 10 cbcm. Alkoholatlösung versetzt.
2. 5 gr. Ricinusöl mit 10 cbcm. Alkohol und 15 cbcm. Alkoholatlösung.

In beiden Fällen ist die Verseifung nach 3 Stunden vollständig.

[1]) Vergl. Obermüller, diese Zeitschr., Bd. XV, S. 37.

3. 5 gr. Ricinusöl, 35 cbcm. Alkohol, 15 cbcm. Alkoholat. Verseifung nach 24 Stunden vollständig.
4. 5 gr. Ricinusöl, 60 cbcm. Alkohol, 15 cbcm. Alkoholatlösung. Nach 24 Stunden verseift.
5. 5 gr. Ricinusöl, 85 cbcm. Alkohol, 15 cbcm. Alkoholatlösung. Nach 24 Stunden ist eine sehr geringe Trübung beim Auflösen des Products in Wasser bemerkbar, wahrscheinlich durch unzersetzten Aethylester bewirkt.

Ebenso wie in alkoholischer Lösung, kann die Verseifung auch in ätherisch-alkoholischer Lösung zu Ende geführt werden. Um die Verseifung auf letzterem Wege zu bewirken, löst man etwa 5 gr. des Fettes in Aether und fügt die zur Verseifung hinreichende Menge des Natriumalkoholats (enthaltend 0,5 bis 0,7 gr. Na) allmälig und unter gutem Umschütteln hinzu. Bei jedesmaligem Einträufeln des Alkoholats beginnt eine Ausscheidung der Seifen[1]).

In vielen Fällen, insbesondere da, wo es sich um die Bestimmung der Fettsäuren handelt, kann man die Verseifung dadurch beschleunigen, dass man den Alkohol, der Fett und Alkoholat enthält, verdunstet und den Rückstand kurze Zeit auf dem Wasserbade erhitzt.

Wendet man dies Verfahren an, so nimmt bei Verseifung von 5 gr. Hammeltalg, in 20 cbcm. Alkohol gelöst, mit 10 cbcm. Alkoholatlösung (enthaltend 0,5 gr. Na) die ganze Verseifung einschliesslich des Abdunstens 12 Minuten in Anspruch; nimmt man 50 cbcm. Alkohol, so dauert die Operation etwa 20 Minuten.

Vermeidet man das Eindunsten durch Anwendung eines Rückflusskühler, so ist die Verseifung nicht so bald beendet, z. B. ist bei Anwendung von 5 gr. Fett, 50 cbcm. Alkohol und der entsprechenden Alkoholatmenge, enthaltend 0,5 gr. Na, nach einer halben Stunde noch unverseifte Substanz übrig. Nimmt man in diesem Falle aber mehr Alkoholat, nämlich auf 5 gr. Fett und 50 cbcm. Alkohol, die 0,75 gr. Na entsprechende

---

[1]) Auch durch alkohol. Kalilauge kann Fett in der Kälte verseift werden, hiebei tritt indess keine Abscheidnng der Seifen ein.

Menge, so ist die Verseifung auch am Rückflusskühler schon nach 5 Minuten beendet.

Im letzteren Falle erreicht man die gleiche Schnelligkeit der Verseifung, wie bei Anwendung von alkoholischer Kalilauge, welche für 5 gr. Fett und 50 cbcm. Alkohol 2 gr. KOH enthält.

Die zur Verseifung erforderliche Menge Natrium ergiebt sich aus folgenden Versuchen. Es wurde eine Lösung angewandt, welche in 100 cbcm. Alkohol 5,2 gr. Natrium enthielt:

1. 5 gr. Hammeltalg in 50 cbcm. Alkohol gelöst; nach Zusatz von 7,5 cbcm. Alkoholatlösung und Eindunsten noch nicht verseift, nach Zusatz von 8,1 cbcm. verseift. 8,1 cbcm. Alkoholat entsprechen 0,42 gr. Na.
2. 5 gr. Hammeltalg, in 50 cbcm. Alkohol gelöst, nach Zusatz von 7,5 cbcm. Alkoholatlösung und Eindunsten noch nicht verseift, nach Zusatz von 8,0 cbcm. völlige Verseifung. 8,0 cbcm. Alkoholat entsprechen 0,416 gr. Na.

Nimmt man an, dass der Hammeltalg aus gleichen Theilen Tripalmitin und Tristearin bestehe, und dass bei der Verseifung 96 % Fettsäuren entstehen (s. unten), so ist 0,41 gr. Natrium erforderlich. Die zur Verseifung nöthige Menge Natrium stimmt also mit der theoretisch berechneten überein.

Wenn man die Verseifung durch Eindunsten vollzieht, so ist es nicht nöthig, solche Mengen Alkohol anzuwenden, welche zur Lösung des Fetts erforderlich wären. Uebergiesst man z. B. 5 gr. Hammeltalg mit 10 cbcm. absolutem Alkohol und erhitzt man auf dem Wasserbade, so befindet sich das Fett als geschmolzene Schicht unter dem Alkohol. Fügt man jetzt 10 cbcm. Natriumalkoholat (0,5 gr. Na) hinzu, so tritt sofort Lösung und beim Eindunsten völlige Verseifung des Fettes ein.

Die Ausführung der Fettsäure-Bestimmung im Fett gestaltet sich folgendermassen:

Die zur Verseifung nöthige Lösung von Natriumalkoholat ist jedesmal frisch zu bereiten. Man löst zu dem Zweck 5 gr. metallisches blankes Natrium in 100 cbcm. absoluten Alkohol, ohne während der heftigen Reaction zu kühlen, zur

Vermeidung des allzustarken Abdunstens des Alkohols nimmt man die Lösung in einem mit Rückflusskühler versehenen Kolben vor. Man füllt nöthigenfalls auf 100 cbcm. auf. 10 cbcm. einer solchen Lösung genügen zur Verseifung von 5 gr. Hammeltalg, für Butterfett nimmt man etwa 15 cbcm.

Zur Analyse wägt man ungefähr 5 gr. des geschmolzenen Fettes mit Hülfe einer Pipette in einem 250 cbcm. fassenden Kolben ab, übergiesst sie mit 10—20 cbcm. absoluten Alkohol, erwärmt auf dem Wasserbade, bis das Fett wieder geschmolzen ist und fügt 10—15 cbcm. der Alkoholatlösung hinzu. Das Fett löst sich sofort. Alsdann verjagt man auf stark siedendem Wasserbade den Alkohol, indem man den Kolben schief stellt und erhitzt die trockne Seife noch kurze Zeit. Man löst hierauf die Seife in 100 cbcm. Wasser und verfährt im Uebrigen nach den von Hehner angegebenen Vorschriften.

In dieser Weise wurden eine Reihe von Fettsäure-Bestimmungen in der Butter und im Hammeltalg ausgeführt und mit den durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge gewonnenen Zahlen verglichen. Es ergiebt sich aus der Zusammenstellung, dass beide Methoden zu dem gleichen Resultat führen, dass also das Natriumalkoholat ebenso wie die alkoholische Kalilauge bei derartigen Analysen verwendet werden kann.

Analysen von Butter.

I. Probe.

Verseifung durch alkoholische Kalilauge.

1. 5,0094 gr. Fett giebt 4,4548 gr. Fettsäuren = 88,93 % Fettsäure.
2. 5,0226 gr. Fett, 4,4742 gr. Fettsäuren = 89,08 % Fettsäure.
3. 5,0172 gr. Fett, 4,4555 gr. Fettsäure = 88,80 % Fettsäure.

Verseifung durch Alkoholat.

4. 5,0125 gr. Fett, 4,4534 gr. Fettsäure = 88,85 % Fettsäure.
5. 5,0238 gr. Fett, 4,4616 gr. Fettsäure = 88,81 % Fettsäure.
6. 5,0058 gr. Fett, 4,4438 gr. Fettsäure = 88,77 % Fettsäure.

Alkohol. Kalilauge.	Natriumalkoholat.
88,93 %	88,85 %.
89,08 %	88,81 %.
88,80 %	88,77 %.
Mittel 88,94 %	Mittel 88,81 %.

II. Probe.

Verseifung durch alkoholische Kalilauge.

1. 4,9982 gr. Fett, 4,4424 gr. Fettsäure = 88,88 %.
2. 5,0130 gr. Fett, 4,4608 gr. Fettsäure = 88,98 %.
3. 5,0568 gr. Fett, 4,4936 gr. Fettsäure = 88,86 %.
Mittel = 88,91 %.

Verseifung durch Alkoholat.

4. 5,0148 gr. Fett, 4,4608 gr. Fettsäure = 88,95 %.
5. 5,0245 gr. Fett, 4,4701 gr. Fettsäure = 88,97 %.
6. 5,0024 gr. Fett, 4,4510 gr. Fettsäure = 88,98 %.
Mittel = 88,97 %.

Hammeltalg.

I. Probe.

Verseifung durch alkoholische Kalilauge.

1. 5,0408 gr. Fett, 4,8376 gr. Fettsäure = 95,97 %.

Verseifung durch Alkoholat.

2. 5,0816 gr. Fett, 4,8735 gr. Fettsäure = 95,92 %.
3. 4,9960 gr. Fett, 4,7949 gr. Fettsäure = 95,97 %.

II. Probe.

Verseifung durch alkoholische Kalilauge.

1. 4,9983 gr. Fett, 4,7852 gr. Fettsäure = 95,74 %.
2. 5,0207 gr. Fett, 4,8025 gr. Fettsäure = 95,65 %.
3. 5,1064 gr. Fett, 4,8831 gr. Fettsäure = 95,63 %.
Mittel = 95,67 %.

Verseifung durch Alkoholat.

4. 5,0042 gr. Fett, 4,7902 gr. Fettsäure = 95,72 %.
5. 5,0363 gr. Fett, 4,8187 gr. Fettsäure = 95,68 %.
6. 5,0034 gr. Fett, 4,7883 gr. Fettsäure = 95,70 %.
Mittel = 95,70 %.

Ueber die Chorda dorsalis.

Von

A. Kossel.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 10. Februar 1891.)

Für die Entscheidung der heute noch streitigen Frage nach der histologischen Stellung der Chorda dorsalis können neben den morphologischen auch chemische Untersuchungen massgebend sein. Es liegen aber nur spärliche Angaben über die chemische Beschaffenheit dieses Organs und zwar nur bei Petromyzon vor. Stenberg[1]) stellte fest, dass dieses vielfach dem Knorpelgewebe zugetheilte Gebilde weder Glutin, noch «Chondrin», noch Mucin, wohl aber einen durch Pepsin und Trypsin verdaulichen Eiweisskörper enthält. Schon früher hatte Neumann[2]) gezeigt, dass die Chordazellen sich ebenso wie die Knorpelzellen mit Jod färben, und hatte darauf hingewiesen, dass diese Thatsache zu Gunsten der Zugehörigkeit zu dem Knorpelgewebe spreche. Neumann theilte zugleich eine Untersuchung von Jaffé mit, welcher

[1]) Archiv f. Anatomie und Physiologie, herausg. von His, Braune und E. du Bois-Reymond. Anatomische Abtheilung, Jahrgang 1881, S. 105.

[2]) Archiv f. mikroskop. Anatomie, herausg. von La Valette St.-Georges und Waldeyer, Bd. 14, S. 54.

die Gegenwart des Glykogens in der Chorda feststellte, während der gleiche chemische Nachweis dieses Körpers im Knorpel nicht gelang.

Ich hatte Gelegenheit, den Chordastrang des Störs in frischem Zustand zu untersuchen; der Strang lässt sich leicht unverletzt aus der seitlich aufgeschnittenen Scheide herausziehen, das Gewicht desselben betrug bei einem 16 Kilo schweren Thier 185 gr. Die Reaction des Gewebes erwies sich 24 Stunden nach dem Tode (während welcher Zeit das Thier in Eis aufbewahrt war) als neutral. Lässt man Stücke desselben einige Stunden liegen, so schrumpft das Gewebe und presst einen neutral reagirenden Saft aus; es tritt hier dieselbe Erscheinung ein, welche ich früher am embryonalen Gewebe beobachtet habe und welche zur Gewinnung des embryonalen Gewebssaftes (Lymphe) benutzt werden kann[1]).

Der Wassergehalt des Chordastranges betrug in einem Fall 96,41 %, bei einem andern Thier 95,41 %. Dieser Wasserreichthum des Gewebes innerhalb des Körpers eines erwachsenen Thieres ist sehr auffallend, besonders dann, wenn man den Wassergehalt des Chordagewebes mit dem des umgebenden Knorpels vergleicht. Der letztere enthielt bei dem zweiten Thier 81,56 % Feuchtigkeit.

Neben den organischen Stoffen befand sich in dem festen Rückstand des Chordastranges 0,85 % Asche (bezogen auf das feuchte Organ), darin war enthalten 0,805 % in Wasser lösliche und 0,047 % unlösliche Substanz. Nimmt man an, dass die lösliche Substanz in der Gewebsflüssigkeit enthalten ist, so würde eine 0,83 % Salze enthaltende Lösung das Gewebe durchtränken. Raske (l. c.) fand im embryonalen Gewebssaft des Rindes 0,61—0,72 % lösliche Salze.

Die frische Chorda enthält nur sehr geringe Mengen von löslichen Eiweisskörpern, das wässerige Extract derselben

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 336.

gab mit Essigsäure und Ferrocyankalium nur schwache Trübung; Mucin oder eine mucinähnliche Substanz ist nicht nachweisbar, ebenso wenig Glutin oder Collagen. Hingegen kann man durch siedendes Wasser sehr beträchtliche Mengen von Glykogen gewinnen. In einem Falle ergaben 60 gr. des feuchten Chordastranges nach wiederholtem Auskochen mit Wasser 0,2790 gr. Glykogen, entsprechend 12,95 % des bei 100° getrockneten Gewebes. Bei einer zweiten Analyse desselben Organs lieferten 60 gr. Chordagewebe 0,2710 gr. Glykogen, d. i. 12,58 % des festen Rückstandes. Für die Gewinnung des Glykogens war das Gewebe zunächst mit Wasser ausgekocht und darauf mehrere Stunden mit Wasser im geschlossenen Rohr auf 100° erhitzt; diese Extraction musste zur völligen Erschöpfung des Gewebes dreimal wiederholt werden.

Der nach dieser Behandlung zurückbleibende unlösliche Rest besteht aus einem Eiweisskörper, welcher nach längerem Sieden mit starker Salzsäure keine reducirende Substanz abspaltet. Wenn man das mit kaltem Wasser erschöpfte Gewebe mit verdünnter Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur schüttelt, so löst es sich bis auf geringe Reste auf. Die filtrirte Lösung giebt beim Ansäuern mit Salzsäure oder Essigsäure einen Niederschlag, welcher beim Auswaschen mit neutralem Wasser wieder in Lösung geht und aus dieser Lösung durch Säuren gefällt werden kann. Dieser Körper wird durch Pepsinsalzsäure leicht und vollständig gelöst. Der bei der Glykogengewinnung verbliebene, in heissem Wasser unlösliche Rückstand wurde zunächst mit Alkohol und Aether erschöpft und sodann analysirt. Die bei der Verbrennung gewonnenen Zahlen (51,82 % C, 7,74 % H, 15,8 % N), welche in Anbetracht der unvollkommenen Darstellungsweise keinen Anspruch auf Genauigkeit machen können, entsprechen im Allgemeinen der Zusammensetzung der Eiweisskörper, nur erweist sich der Wasserstoff, vielleicht in Folge einer Verunreinigung, etwas erhöht.

Aus den mitgetheilten Beobachtungen lässt sich ebenso wenig wie aus den bei Petromyzon angestellten Untersuchungen

von S t e n b e r g eine Stütze entnehmen für die Anschauung, dass die Chorda dorsalis der Bindegewebsgruppe oder gar speciell dem Knorpelgewebe angehöre. Ich konnte keinen der typischen gewebsbildenden Stoffe des Bindegewebes nachweisen. Mit Sicherheit lässt sich aber erkennen, dass das Chordagewebe in chemischer Hinsicht vollkommen den Charakter embryonalen Gewebes zeigt.

Ueber die Bildung von Milchsäure und Glycose im Organismus bei Sauerstoffmangel.

Von

Trasaburo Araki.

(Der Redaction zugegangen am 27. Februar 1891.)

Das Auftreten von Milchsäure im Organismus ist auch abgesehen vom Magen und Darmcanal eine häufige Erscheinung und die Beziehung derselben zu gewissen Verhältnissen, wie Tetanus, Todtenstarre, Absterben der grauen Substanz des Gehirns wohl als sicher festgestellt anzunehmen.

Man hat bezüglich der Muskeln allen Grund zur Annahme, dass ihre Bildung aus einer Zerlegung von Kohlehydrat herzuleiten sei, wie ja ausserhalb des Organismus durch zahlreiche Fermentwirkungen, auch durch Alkalien die Entstehung von Milchsäure aus Kohlehydrat auf das Mannigfaltigste nachzuweisen ist. Es fehlt aber nicht allein eine nähere Einsicht in den Vorgang dieser Bildung bei der starken mechanischen Thätigkeit in den Muskeln, bei dem Absterben derselben und in der grauen Substanz, bei dem Absterben des Blutes (Salomon), sondern es ist auch in verschiedenen pathologischen Zuständen das Auftreten von Milchsäure im Harne beobachtet [Phosphorvergiftung, Exstirpation der Leber (Schultze und Ries, Minkowski)], dessen Zusammenhang mit den übrigen Vorgängen durchaus räthselhaft erscheint.

Von Professor Hoppe-Seyler aufgefordert, über die Ursachen der Bildung von Milchsäure im Organismus und ihres Auftretens im Harne experimentelle Untersuchungen anzustellen, und speciell meine Aufmerksamkeit auf die Beziehung derselben zu den Oxydationsvorgängen im Organismus zu

richten, hielt ich es zunächst für unumgänglich, in Ermangelung einfacher, zuverlässiger und charakteristischer Reactionen der Milchsäure, die Methode der Gewinnung und der Reinigung der Milchsäure aus Blut, Harn und Organen einer weiteren Prüfung zu unterwerfen.

Dass die frühere Methode der Abtrennung der Milchsäure mit Salzsäure oder Schwefelsäure vor dem Ausschütteln mit Aether unrichtige Resultate ergeben hat, wenn nicht nachherige Trennung von Salzsäure oder Schwefelsäure ausgeführt wird, war bereits bekannt, dagegen war nochmals zu prüfen, ob die von Drechsel zuerst empfohlene Methode der Abscheidung der Milchsäure durch Phosphorsäure, wie sie von W. Wyssokowitsch und M. Werther[1]) bereits mit Vortheil angewendet ist, genaue Trennung giebt, oder ob nach Hoppe-Seyler[2]) eine Trennung des milchsauren vom salzsauren Zink vermittelst Schwefelwasserstoff, ein etwas umständliches Verfahren, allein übrig bleibt.

Nach dem bekannten Verfahren von Böhm[3]) zur Isolirung und Bestimmung der Milchsäure in Muskeln, welches in den wesentlichsten Principien von dem früher üblichen nicht abweicht, habe ich aus Pferdefleisch in 4 Portionen milchsaures Zink dargestellt. Es ist mir hierbei nicht gelungen, chlorfreies Lactat zu gewinnen und, da die Muskeln stets Chlorkalium enthalten, kann dies auch nicht wohl anders sein. Es wurden erhalten:

Menge des verwendeten Fleisches.	Milchsaures Zink.	Chlor in milchsaurem Zink.	Chlor in 100 Theilen milchs. Zink.
500 gr.	1,994 gr.	0,0423 gr.	2,12 %
485 »	2,039 »	0,0610 »	2,99 %
500 »	2,814 »	0,0640 »	2,23 %
500 »	2,733 »	0,0556 »	2,03 %

[1]) Pflüger's Archiv für d. ges. Physiol., Bd. 46, S. 68, 1889.

[2]) Hoppe-Seyler's Handbuch d. physiol. u. pathol.-chemisch. Analyse, 5. Auflage, 1883, S. 104—105.

[3]) Pflüger's Archiv, Bd. 23, S. 57, 1880.

Um diesen erheblichen Fehler zu beseitigen, ist folgende Methode von Prof. Hoppe-Seyler angegeben:

«Die klaren abgegossenen Aetherauszüge werden dann mit etwas fein pulverigem Zinkcarbonat versetzt und unter öfterem Umschütteln 24 Stunden stehen gelassen, dann der Aether abdestillirt, der Rückstand vereinigt, mit dem vorher erhaltenen Zinkniederschlag mit noch mehr Zinkcarbonat versetzt, Wasser hinzugefügt, einige Zeit im Sieden erhalten, dann heiss filtrirt und ausgewaschen.

In die heisse wässrige Lösung wird Schwefelwasserstoff im anhaltenden Strome eingeleitet, heiss filtrirt und das Filtrat wieder mit Schwefelwasserstoff behandelt, bis derselbe keinen Niederschlag mehr giebt. Dann wird die klare, vielleicht etwas Zinksulfat und sicher Chlorzink neben freier Milchsäure enthaltende Lösung auf dem Wassbade zum Syrup eingedampft, der erkaltete Syrup abermals in Aether gelöst, vom bleibenden Rückstande abgegossen und nach Abdestilliren des Aethers die reine Fleischmilchsäure gewonnen.»

Diese Methode ist umständlich und in den von mir angestellten Versuchen wurden zu niedrige Werthe erhalten.

Menge des verwendeten Fleisches.	Menge des milchsauren Zinkes.	Menge des nach obigem Verfahren gereinigten milchs. Zinkes.	Nach dem Zusatz von $AgNO_3 + HNO_3$.
472 gr.	1,944 gr.	1,587 gr.	Kein Niederschlag.
480 »	1,892 »	1,499 »	» »

Werther[1]) hat nach Vorgang Drechsel's, wie bereits oben erwähnt ist, Phosphorsäure anstatt Schwefelsäure verwendet, um die Milchsäure aus ihrer Verbindung mit der Base abzutrennen.

Die Methode ist folgende:

«Aus dem Wasserextracte der Muskeln wurde das Alkoholextract hergestellt. Dieses wurde auf dem Wasserbade ein-

[1]) Pflüger's Archiv für d. gesammt. Physiol., Bd. 46, S. 68, 1889.

gedampft, mit einigen Tropfen Barytwasser stark alkalisch gemacht und zur Entfernung der Fette mit Aether geschüttelt. Zu der nunmehr folgenden Ansäuerung mit Phosphorsäure wurde die Flüssigkeit fünfmal je 15—20 Minuten lang mit stets erneuerten Aethermengen geschüttelt, der Aether auf das Sorgfältigste getrennt, sämmtliche Aetherauszüge in einem trockenen Kolben vereinigt und bis zum nächsten Tage stehen gelassen. Es hatten sich dann gewöhnlich am Boden des Kolbens einige Wassertropfen gesammelt. Der Aether wurde dieserhalb von diesen durch Umgiessen in einen anderen getrockneten Kolben getrennt. Darauf wurde der Aether abdestillirt, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und der noch zurückgebliebene Aether und etwaige Säure durch wiederholtes vorsichtiges Abdampfen auf dem Wasserbade entfernt. Die Lösung wurde filtrirt und durch Kochen mit Zinkcarbonat das Zinksalz gewonnen. Die filtrirte Lösung desselben in einem gewogenen Schälchen bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft, blieb dann an der Luft über Chlorcalcium oder über concentrirter Schwefelsäure behufs Krystallisation bis zur Gewichtsconstanz stehen.»

Um die Richtigkeit dieser Methode zu prüfen, habe ich 3 Versuche angestellt:

Menge des verwendeten Fleisches.	Milchsaures Zink erhalten.	Chlor im milchsauren Zink.	
500 gr.	2,895 gr.	kein Niederschlag, nur Trübung	nach dem Zusatz von $AgNO_3 + HNO_3$.
500 »	2,425 »	desgl.	
500 »	2,913 »	desgl.	

Man ersieht aus der vorliegenden Tabelle, dass das nach Werther's resp. Drechsel's Verfahren aus Pferdefleisch dargestellte Zinklactat fast rein ist und das Chlorkalium der Muskeln durch Phosphorsäure nicht zerlegt wird.

Es fragt sich nun: «ob die Milchsäure aus ihrer Verbindung mit dem Metall durch Phosphorsäure vollkommen verdrängt wird?»

Zur Beantwortung dieser Frage habe ich zwei Analysen ausgeführt. Eine bestimmte Menge des Calciumlactates wurde in ein wenig Wasser gelöst, mit Phosphorsäure angesäuert und mehrmals mit Aether geschüttelt. Der klar abgegossene Aether wurde abdestillirt und der Rückstand mit Zinkcarbonat versetzt. Die Menge des in obiger Weise dargestellten milchsauren Zinks entspricht ziemlich genau der des ursprünglichen Calciumlactates.

Gewicht des Calciumlactates.	Gewicht des aus Calciumlactat dargestellten Zinklactates.	Berechnete Zahl der Milchsäure im Calciumlactat.	Gefundene Zahl der Milchsäure im Calciumlactat.
0,315 gr.	0,344 gr.	81,651 %	79,971 %
0,525 »	0,586 »	81,651 %	80,971 %

Durch die geschilderten Untersuchungen ist, wie ich glaube, nachgewiesen, dass bei Verwendung der Phosphorsäure zur Abtrennung der Milchsäure aus ihren Salzverbindungen diese Säure vollständig zur quantitativen Bestimmung und frei von Verunreinigung mit Chlorverbindungen erhalten wird.

Zum Nachweise der Milchsäure im Harne vom Frosche ist Uffelmann's[1]) Eisenchloridreaction von Marcuse[2]) empfohlen. Ob diese Reaction in allen Fällen brauchbar ist, scheint mir doch zweifelhaft.

Zum Nachweis von Glycose wurden von mir in den zu schildernden Versuchen ausser der Reduction von Kupferoxyd in alkalischer Lösung die Gährung, die Darstellung des Glycosazons in deutlichen Krystallen und die Circumpolarisationsprüfung benutzt. Zur quantitativen Bestimmung, soweit Material hierzu disponibel war, dienten Circumpolarisation und Gährung mit Bierhefe. Wenn das vorhandene Untersuchungsmaterial nicht sehr reichlich zu Gebote stand, habe

---

[1]) Ueber die Methode des Nachweises freier Säuren im Mageninhalt Archiv f. klin. Med., Bd. 8.

[2]) Archiv f. d. gesammt. Physiol., Bd. XXXI, S. 439.

ich mich begnügt, durch Trommer's Probe und Prüfung mit Phenylhydrazin bei Siedetemperatur festzustellen, ob viel oder wenig Glycose in der Flüssigkeit enthalten war, weil es mir in erster Linie darum zu thun war, über das Vorhandensein und die Quantität von Milchsäure in Harn, Blut und Organen der Versuchsthiere sichere Aufschlüsse zu erhalten. In mehreren Versuchen wurde nach dem Ausschütteln mit Aether (zur Entfernung der Milchsäure) der wässrige Rückstand mit Baryumcarbonat gesättigt, filtrirt, mit Thierkohle entfärbt und Glycose mit Circumpolarisation bestimmt.

War reichlich Harn vorhanden, so wurde gelegentlich auch auf Acetessigsäure, Aceton und fette Säuren untersucht, aber im Ganzen mit negativem Resultate, auch waren die Versuche nicht zahlreich.

Bezüglich der Pseudo-β-Oxybuttersäure behalte ich mir spätere Mittheilungen vor, weil noch einige Vorarbeiten betreffend zweckmässige Trennung der β-Oxybuttersäure resp. der α-Crotonsäure von der Milchsäure auszuführen sind.

Einige Ammoniakbestimmungen im Harne sind nach der Schlösing'schen Methode ausgeführt. Ich zweifle nicht daran, dass bei reichlich im Harne vorhandener Milchsäure auch eine Zunahme der Ammoniakausscheidung bei weiteren Untersuchungen sich ergeben wird, wie es meine Versuche wahrscheinlich machen.

Die allgemeine Versuchsanordnung.

Um die Einwirkung des Sauerstoffmangels auf warmblütige Thiere kennen zu lernen, habe ich mich hauptsächlich zweier experimenteller Methoden bedient, nämlich:

1. Des Einbringens des Thieres in einen geschlossenen Luftraum, aus welchem durch eine dem bekannten Regnault-schen Principe entsprechende Vorrichtung die Kohlensäure, welche das Thier exspirirte, fortwährend durch Kalilauge von 1,27 spec. Gew. entfernt, zugleich der vom Thier aufgenommene Sauerstoff des Athemraumes, in dem das Thier sich befand, nicht durch Sauerstoffgas, sondern durch atm. Luft ersetzt

wurde, so dass der summarische Gasdruck in dem Raum stets dem äusseren Atmosphärendruck fast vollkommen gleich blieb. Hierbei ist die einzige Aenderung die allmälig weiter und weiter fortschreitende Verarmung der vom Thier geathmeten Luft an Sauerstoff.

2. In weiteren Versuchsreihen wurde die Verarmung des Blutes an Sauerstoff im Thier durch vorsichtige Vergiftung mit Kohlenoxyd herbeigeführt.

Bei diesem letzteren Verfahren kann eingewendet werden, dass dem Kohlenoxyd ausser der Herbeiführung des Sauerstoffmangels auch noch andere Einwirkungen auf die verschiedenen Organe des Thieres eigenthümlich sein könnten. Gegen das erstere Verfahren sind Einwendungen nicht möglich, weil ausser der allmäligen Abnahme des Sauerstoffspartiardruckes im Athemraume keine Aenderungen eintreten, insbesondere Wasserdampf und Wärmeverlust des Thieres während des Versuches gegen die normalen Verhältnisse nicht geändert werden, auch eine Ansammlung und schädigende Einwirkung des gebildeten CO_2 sicher vermieden ist.

Das Versuchsthier befindet sich bei den ersteren Versuchen im aussen und innen mit Oelfarbe angestrichenen Holzkasten, der mit einem verschiebbaren Deckel oben verschlossen ist. Die Fugen des Kastens sind mit Glaserkitt und Fett gedichtet. Absolut dichter Verschluss ist nicht erforderlich. Durch die oben vom Kasten ausgehende Röhre wird Luft ausgesogen und durch eine Flasche mit Aetzkalilauge geführt zu dem kleinen Gebläse, dessen Glascylinder in Quecksilber auf- und abgetrieben werden durch ein Hebelwerk, welches durch einen Wassermotor in Bewegung erhalten wird. Geht dann der Glascylinder wieder abwärts, so wird die Luft aus denselben durch eine zweite Flasche mit Kalilauge hindurch zum Behälter, in welchem das Thier athmet, zurückgetrieben und tritt unten in den Kasten ein. Beide in Quecksilber abwechselnd auf- und abgetriebene Cylinder wirken in gleicher Weise, so dass in der Zeiteinheit ebenso viel in das Gebläse eintritt, als auf der anderen Seite zum Kasten zurückgetrieben wird, während beiderseits die Luft

stets zweimal durch Kalilauge streicht. Die Aetzkaliflaschen wirken als die Ventile für Zu- und Abströmen vom Gebläse. An die Röhre, welche die vom CO_2 befreite Luft wieder zum Kasten zurückführt, ist seitlich eine Röhre angeschmolzen, welche zu einem kleinen Fläschchen führt, das halb mit Wasser gefüllt ist; in letzteres taucht ein an beiden Enden offenes, durch den verschliessenden Kautschukstopfen gestecktes Rohr etwas ein. Sinkt der Druck in der Luft im Kasten, so tritt Luft in Blasen durch das Wasser, bis der Druck aussen und innen ausgeglichen ist.

Die Thiere befinden sich natürlich längere Zeit, während der Sauerstoffprocentgehalt in der Luft im Kasten fällt, anscheinend ganz wohl, sehr allmälig entwickelt sich Dyspnoe mit zuerst beschleunigten, später langsameren, aber vertieften Inspirationen; sie werden schwächer und schwächer, legen sich dann hin und bei verlangsamtem und flacherem Athmen tritt oft unerwartet schnell Stillstand der Respiration ein. Erkennt man rechtzeitig die Gefahr, so bringt kurzes Oeffnen des Kastens durch Zurückschieben des Deckels für 1—5 Centimeter dem Thier wieder für längere Zeit genügenden Sauerstoff. Hört die Respiration auf, so ist auch künstliche Respiration nicht immer im Stande gewesen, das Leben zu erhalten, insbesondere geschieht es bei gefülltem Magen sehr leicht, dass etwas Mageninhalt in die Luftwege gelangt.

I. Einwirkung des Sauerstoffmangels auf warmblütige Thiere mit Anwendung des ziemlich luftdichten Kastens.

A. Versuche an Hunden.

Die nachstehenden Versuche werden an Hunden zuerst bei Fleischfütterung und dann im Hungerzustande angestellt.

a) Hunde mit Fleischfütterung.

1. Versuch.

4. Juni 1890. Kleiner Hund, dessen Urin vor dem Versuche von Eiweiss und Zucker ganz frei gefunden war, wurde in den Kasten gebracht. Der Versuch dauerte 7 Stunden;

frische Luft wurde zweimal bei drohender Erstickung in den Kasten zugelassen.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
93 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedeut. Menge	0,053 gr.	Während des Versuchs.
103 cbcm.	sauer	fehlt	fehlt	fehlt	Vom Ende des Versuchs bis zum nächsten Morgen (15 Stunden).

2. Versuch.

15. Juli 1890. Kleine Hündin wurde um 9 Uhr Vorm. in den Kasten gebracht. 11 Uhr 20 Min. begann Dyspnoe. 12 Uhr vollkommen betäubt. 12 Uhr 15 Min. durch das Oeffnen des Deckels die Luft zugelassen. 2 Uhr 10 Min. Respiration aufgehört. Das Thier wurde gleich aus dem Kasten herausgenommen und künstliche Respiration gemacht. Nachdem es ganz hergestellt ist, wurde es wieder in den Kasten hinein gebracht. Um 4 Uhr fing Dyspnoe wieder an. Von 4 Uhr bis 6 Uhr dauerte die Betäubung. Um 6 Uhr 15 Min. wurde der Versuch beendet.

Die Resultate lassen sich in folgender Tabelle zusammenstellen:

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
84 cbcm.	sauer	viel	3,0 %	0,019 gr.	Urin während des Versuchs.
125 cbcm.	sauer	fehlt	fehlt	fehlt	Urin vom Ende des Versuchs bis zum nächsten Morgen.

3. Versuch.

Dieselbe Hündin, wie beim 2. Versuche. 16. Juli 1890. 9 Uhr Vorm. im Kasten. 11 Uhr 20 Min. begann Dyspnoe. 11 Uhr 50 Min. vollkommen betäubt. 12 Uhr 30 Min. Re-

spiration aufgehört. Das Thier ist zu Grunde gegangen, obgleich ich es sofort nach Stillstand der Athembewegungen aus dem Kasten herausgenommen und durch die künstliche Respiration vom Tode zu retten gesucht habe.

Als Ursache des Todes wurde Eindringen von Mageninhalt beim Erbrechen in die Luftwege constatirt, sei es nün, dass dieselben erst mit der künstlichen Respiration oder bereits vorher in dieselben gelangten.

Die Resultate sind folgende:

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
63 cbcm.	sauer	sehr wenig vorhanden	sehr wenig vorhanden	0,226 gr.	Urin während des Versuchs.

0,126 milchs. Zink gaben 0,050 ZnS = 0,0335 Zn.

Gefundenes Zn: 26,58 % — Berechnetes Zn: 26,74 %.

4. Versuch.

22. Juli 1890. Kleiner Hund. Um 9 Uhr Vorm. im Kasten. 10 Uhr 50 Min. begann Dyspnoe. 11 Uhr 30 Min. schon betäubt. 11 Uhr 50 Min. Luft zugeführt. 1 Uhr 20 Min. wieder Luft zugelassen. In andauernder Betäubung erhalten bis Abends 6 Uhr. Das Thier wurde um 6 Uhr 20 Min. aus dem Kasten herausgenommen.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
107 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeutender Menge	vorhanden in bedeutender Menge	0,412 gr.	Urin während des Versuchs.

0,137 milchs. Zink gaben 0,0556 ZnS = 0,0372 Zn.

Gefundenes Zn: 27,15 % — Berechnetes Zn: 26,74 %.

5. Versuch.

30. October 1890. Kleiner Hund von 3,200 Kilo. 9 Uhr 45 Min. Vorm. im Kasten. 12 Uhr fing Dyspnoe mit beschleu-

nigter Inspiration an. 1 Uhr schon betäubt. 1 Uhr 20 Min. Luft in den Kasten gelassen. 4 Uhr wieder Luft zugeführt. Von 4 Uhr bis 6 Uhr 20 Min. setzte ich den Versuch fort, ohne dass der Deckel geöffnet wird.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
24 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeutender Menge	vorhanden in bedeutender Menge	sehr wenig	Urin während des Versuchs.
150 cbcm.	sauer	sehr wenig	sehr wenig	0,277 gr.	Urin vom Ende des Versuchs bis zum nächsten Morgen.

6. Versuch.

Kleiner Hund von 4,750 Kilo. 4. November 1890. 9 Uhr 10 Min. Vorm. im Kasten. 11 Uhr 40 Min. begann Dyspnoe. 12 Uhr vollkommen betäubt. 12 Uhr 20 Min. Luft zugeführt. Um 1 Uhr 50 Min. bei drohendem Stillstand der Respiration wurde das Thier aus dem Kasten herausgenommen, damit es einige Zeit in frischer Luft respirirte. Um 2 Uhr wurde der Hund wieder in den Kasten gebracht. 3 Uhr 20 Min. Dyspnoe. Um 6 Uhr wurde der Versuch beendet.

Nachdem der Urin auf Eiweiss und Zucker geprüft war, wurde er in zwei Portionen getheilt. Eine Portion wurde zur NH_3-Bestimmung und die andere zur Darstellung der Milchsäure verwendet.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	Ammoniak.	
103 cbcm.	sauer	—	—	—	1,54%	Urin vor den Versuchen.
76 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeutender Menge	3,4% (mit Polarisationsapparat)	0,220 gr.	1,70%	Urin während des Versuchs.

Es ist mir nicht gelungen, Aceton und Acetessigsäure nachzuweisen.

7. Versuch.

6. November 1890. Kleiner Hund von 5,00 Kg. 9 Uhr 50 Min. Vorm. im Kasten. 12 Uhr Dyspnoe. 1 Uhr schon betäubt. 2 Uhr 20 Min. starb das Thier plötzlich. Leber und Blut gleich auf Zucker und Milchsäure geprüft.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
25 cbcm.	sauer	vorhanden sehr wenig	Spur	nicht gut krystallisirt	Urin während des Versuchs.
120 cbcm.	—	—	0,075 %	0,433 gr.	Blut.
—	—	—	0,84 %	1,090 gr.	Leber.

8. Versuch.

10. November 1890. Der Hund wog 2,935 Kilo. 9 Uhr 30 Min. Vorm. im Kasten. 11 Uhr 20 Min. starke Dyspnoe. 11 Uhr 30 Min. Luft zugelassen. Um 1 Uhr 15 Min. ist das Thier plötzlich zu Grunde gegangen. Bei der Section wurde Pneumonia in beiden unteren Lappen und starke Bronchitis gefunden.

Harnmenge.	Reaction	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	Glycogen.	
40 cbcm.	sauer	fehlt	fehlt	nicht gut krystallisirt	—	Während des Versuchs.
—	—	fehlt	fehlt	0,267 gr.	fehlt	Leber.

9. Versuch.

24. November 1890. Kleine Hündin von 2,575 Kilo. 9 Uhr 40 Min. Vorm. im Kasten. 11 Uhr 20 Min. Dyspnoe. 12 Uhr vollkommen betäubt. Von 12 Uhr bis Abends 6 Uhr 3mal Luft durchgeführt. Das Thier wurde erst um 6 Uhr 20 Min. aus dem Kasten herausgenommen.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.		Ammoniak.
50 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeutender Menge	2,5 %	0,151 gr.	Urin während des Versuches.	Vor dem Versuch 1,04 % Während des Versuches 2,4 %

Es ist mir wieder nicht gelungen, Aceton und Acetessigsäure nachzuweisen.

10. Versuch.

9. Januar 1891. Der Hund, an dem am 13. December 1890 die Leberarterie unterbunden worden war, um die Frage zu entscheiden, ob Glycose resp. Milchsäure im Harne nach dieser Unterbindung auftritt, wurde um 2 Uhr Nachmittags in den Kasten hineingebracht. Der Versuch dauerte 5 Stunden.

Körpergewicht betrug 7,350 Kilo vor dem Versuche, Körpertemperatur vor dem Versuche 38,7° C., desgleichen nach dem Versuche 37,0° C.

In 26 cbcm. Harn wurden Zucker und Eiweiss reichlich neben 0,0115 gr. milchsauren Zink gefunden.

b) Hunde im Hungerzustand.

11. Versuch.

8. December 1890. Kleine Hündin. 10 Tage vor dem Versuche im Inanitionszustande (nur Wasser gegeben). 9 Uhr Vorm. im Kasten. 10 Uhr 30 Min. begann Dyspnoe mit beschleunigter Inspiration. 11 Uhr 20 Minuten vollkommen betäubt. Von 12 Uhr bis Abends 7 Uhr 3mal Luft zugelassen. 7 Uhr 30 Min. wird der Versuch beendet.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.
20 cbcm.	sauer	vorhanden wenig	fehlt	0,0125 gr.

Körpergewicht vor dem Hungern 2,580 Kg.
» nach » » 2,000 »

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Eiweiss.	Milchs. Zink.	
4. Juni 1890	93 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedeut. Menge	0,053 gr.	
15. Juli »	84 »	sauer	3 % (mit Polarisationsapparate)	vorhanden in bedeut. Menge	0,019 gr.	
16. Juli »	63 »	sauer	vorhanden wenig	vorhanden sehr wenig	0,226 gr.	
22. Juli »	107 »	sauer	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedeut. Menge	0,412 gr.	
30. October »	24 »	sauer	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedeut. Menge	sehr wenig	
30. October »	150 »	sauer	sehr wenig	sehr wenig	0,277 gr.	
4. Novbr. »	76 »	sauer	3,4 %	vorhanden in bedeut. Menge	0,220 gr.	
6. Novbr. »	25 »	sauer	vorhanden sehr wenig	Spur	nicht gut krystallisirt	
10. Novbr. »	40 »	sauer	fehlt	fehlt	nicht gut krystallisirt	Pneumonia.
24. Novbr. »	50 »	sauer	2,5 %	vorhanden in bedeut. Menge	0,151 gr.	
8. Decbr. »	20 »	sauer	fehlt	vorhanden wenig	0,0125 gr.	Im Hungerzustande.
9. Januar 1891	26 »	sauer	reichl. vorhanden	reichlich	0,0115 gr.	

Am 9. Januar 1891: Körpertemperatur vor dem Versuch 38,7°,
» nach » » 37°.

Ueberblickt man die Versuchsresultate, welche in vorliegender Tabelle zusammengestellt sind, so ist ersichtlich; dass Spaltungsproducte, Eiweiss, Zucker und Milchsäure durch Einwirkung des Sauerstoffmangels auf gut ernährte, warmblütige Thiere im Harne auftreten. Bei den Hunden, welche sich im Hungerzustande befanden, wurde durch den Sauerstoffmangel wohl Uebergang von etwas Milchsäure in den Harn bewirkt, auch Eiweiss fehlte nicht im Harn, aber Zucker fand sich nicht darin.

B. Versuche an Hühnern.

Meissner[1]) behauptet, dass die Excremente von gerstefressenden Hühnern meistens in nicht unbeträchtlicher Menge Zucker enthalten. Im Gegensatze zu dieser Ansicht hat Minkowski[2]) niemals in dem Alkoholextract der Harne von gesunden Gänsen, Hühnern und Enten unter den verschiedenen Ernährungsverhältnissen irgend welche Substanzen gefunden, welche Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirten. Er konnte auch nicht in dem nach der Leberexstirpation entleerten Harne Zucker nachweisen, während er reichliche Mengen der Milchsäure aus demselben Harne dargestellt hat.

Um die allgemeine Gültigkeit der letzteren Ansicht zu prüfen, habe ich 2mal das Alkoholextract aus dem Hühnerharn mit Weizenfütterung auf Zucker untersucht. Die Resultate waren immer negative.

Die Versuche wurden auch am Huhn mit Weizenfütterung und an demselben Thiere im Hungerzustande angestellt.

a) Huhn mit Weizenfütterung.

12. Versuch.

2. December 1890. 8 Uhr 50 Min. Vormittags im Kasten. 11 Uhr 20 Min. Dyspnoe. 12 Uhr starke Dyspnoe. 12 Uhr 30 Min. vollkommen betäubt. Diese Betäubung dauerte bis Abends 7 Uhr. Zwischen 1 Uhr und 7 Uhr 3mal Luft durch-

---

[1]) Verhandlungen der Naturforscherversammlung zu Strassburg, 1885.

[2]) Archiv für experiment. Pathologie u. Pharmakologie, Bd. XXI, 1, S. 71—72.

gesaugt. 7 Uhr 10 Min. wurde das Thier aus dem Kasten herausgenommen.

Kothmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
31 gr.	vorhanden in reichlicher Menge	0,179 gr.

b) Huhn im Hungerzustande.

13. Versuch.

19. Januar 1891. 3 Tage hungerndes Huhn. Körpertemperatur vor dem Versuche 40,8° C. Körpertemperatur nach dem Versuche 38,1° C. 9 Uhr 20 Min. Vorm. im Kasten. 11 Uhr 40 Min. Dyspnoe. 12 Uhr betäubt. Um 2 Uhr wurde das Thier aus dem Kasten herausgenommen. Um 3 Uhr wieder im Kasten. Von 4 Uhr 40 Min. bis 7 Uhr 20 Min. dauerte die Betäubung. Um 7 Uhr 30 Min. Versuch abgebrochen. Zwischen 4 Uhr 40 Min. bis 7 Uhr 20 Min. 2mal kurze Zeit Luft in den Kasten zugelassen.

Harnmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
20 cbcm. 6 gr. Kothmasse 20 cbcm. Harn wurde auf dem Wasserbade vollständig eingedampft, mit 6 gr. Kothmasse vereinigt und dann mit Alkohol extrahirt.	fehlt	0,156 gr.

Datum.	Kothmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.	
2. December	31 gr.	vorhanden in bedeut. Menge	0,179 gr.	Mit Weizenfütterung.
19. Januar	20 cbcm. 6 gr. Kothmasse	fehlt	0,156 gr.	3 Tage im Hungerzustand.

Die Resultate stimmen vollkommen mit denen, welche die an Hunden angestellten Versuche geliefert haben, überein.

II. Die Vergiftung mit Kohlenoxyd.

Es ist schon bekannt, dass die Vergiftung mit CO[1]) bei Thieren den Uebergang von Zucker in den Harn zur Folge hat, und dass der Harn immer frei von Zucker ist, wenn man ein Thier vor der Vergiftung durch Hunger glycogenfrei macht. Aber über die Art und Weise, wie sich Glycose im Organismus bei CO-Vergiftung bildet, liessen sich bis jetzt klare Vorstellungen nicht gewinnen. Zuntz[2]) spricht die Vermuthung aus, dass die Glycosurie bei CO-Vergiftung nicht durch CO selbst, sondern durch den von ihm erfolgten Sauerstoffmangel bedingt werde. Er sagt nämlich: «Sauerstoffmangel scheint zu Glycosurie Anlass zu geben; ich erinnere nur an den Befund bei Kohlenoxydvergiftung etc.»

Versuche, in dieser Richtung eine Entscheidung durch das Experiment zu gewinnen, sind, wie es scheint, bis jetzt noch nicht veröffentlicht. Die in Folgendem zu schildernden Versuchsresultate zeigen die gute Uebereinstimmung der Wirkung der CO-Vergiftung mit dem einfachen Mangel an Sauerstoff in der respirirten Luft.

A. Versuche an Hunden.

a) Hunde mit Fleischfütterung.

14. Versuch.

30. Mai 1890. Kleiner Hund. Von 9 Uhr Vorm. im Kasten. CO-Gas 10 Minuten lang sehr langsam vom Gasometer durch die Waschflasche in den Glaskasten, in dem das Thier sich befand, eingeleitet. 9 Uhr 30 Min. CO-Gas ungefähr 5 Minuten lang durchgeleitet. 9 Uhr 40 Min. grosse Unruhe und starke Salivation. 10 Uhr schon Mattigkeit und Unsicherheit in den Bewegungen. Das Thier wurde sofort aus dem Kasten herausgenommen und fast 30 Minuten lang in reiner Luft gelassen. Es war um 10 Uhr 40 Min. voll-

---

[1]) L. Senff, Ueber den Diabetes nach der Kohlenoxydathmung, Dorpat 1869.

[2]) Archiv für Anatomie und Physiologie, S. 386.

kommen hergestellt und wieder in den Kasten gesteckt. CO-Gas 2 Minuten lang sehr langsam durchgeleitet. 11 Uhr 25 Minuten fing der Hund an zu wanken. Um 1 Uhr wurde der Versuch abgebrochen.

3 Uhr 10 Min. Nachmittags begann der Versuch von Neuem. CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 3 Uhr 30 Min. 2 Minuten lang CO-Gas wieder durchgeleitet. 3 Uhr 50 Min. Unruhe. 4 Uhr 15 Min. betäubt. 4 Uhr 40 Min. herausgenommen, denn die Respiration hörte auf. Um 5 Uhr erholte das Thier sich wieder.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.
235 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedeut. Menge	0,205 gr.

0,092 milchs. Zink gaben 0,029 ZnS = 0,0193 Zn.

Gefundenes Zn: 20,979 %   Berechnetes Zn: 26,74 %.

15. Versuch.

1. Juni 1890. Kleiner Hund. 9 Uhr 25 Min. Vormittags im Kasten und CO-Gas 2 Minuten lang sehr langsam durchgeleitet. 9 Uhr 50 Min. starke Salivation. 10 Uhr wieder CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 10 Uhr 20 Min. schon betäubt. 10 Uhr 35 Min. 10 Minuten lang den Kasten geöffnet. 11 Uhr 20 Min. CO-Gas wieder 2 Minuten durchgeleitet. Der Versuch beendet um 1 Uhr 20 Min.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.
95 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedeut. Menge	0,052 gr.

24 Stunden nach dem Versuche hat das Thier alkalisch reagirenden Harn gelassen. Keine Spur von Zucker und Eiweiss; auf Milchsäure nicht untersucht.

16. Versuch.

28. October 1890. Kleine Hündin von 3,471 Kilo. 10 Uhr Vormittags begann der Versuch. 11 Uhr betäubt. 11 Uhr 20 Min. den Kasten geöffnet. 12 Uhr CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 12 Uhr 35 Min. wieder betäubt. 1 Uhr 20 Min. wurde das Thier aus dem Kasten herausgenommen, um es vom Tode zu retten. 2 Uhr ganz wohl geworden, in den Kasten hineingebracht und CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 3 Uhr betäubt. 3 Uhr 15 Min. den Kasten aufgemacht und Luft durchgesaugt. 4 Uhr CO-Gas durchgeleitet. 5 Uhr 20 Min. beendete ich den Versuch.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.
14 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedeut. Menge	nicht gut krystallisirt

b) Hunde im Hungerzustande.

17. Versuch.

20. December 1890. Hund von 3,120 Kilo. Sein Körpergewicht vor dem Hunger betrug 3,931 Kg. 10 Tage lang gehungert. 9 Uhr 30 Min. Vormittags begann der Versuch. 10 Uhr 10 Min. zeigte das Thier schon Unruhe. 11 Uhr betäubt. 11 Uhr 20 Min. den Kasten geöffnet und Luft zugelassen. 12 Uhr 2 Minuten lang CO-Gas durchgeleitet. 1 Uhr das Thier aus dem Kasten heraus- und nach 20 Minuten wieder hineingebracht. 1 Uhr 30 Min. CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 2 Uhr 15 Min. betäubt. Um 3 Uhr 40 Min. ist das Thier zu Grunde gegangen.

Leber und Blut auf Zucker und Milchsäure geprüft. Die Resultate wurden in folgender Tabelle zusammengestellt.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.
22 cbcm. 10 cbcm. während des Versuches 12 cbcm. aus der Blase	sauer	vorhanden in bedeut. Menge	fehlt	0,027 gr.

	Harnmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.	Glycogen.
Blut . . .	200 cbcm.	vorhanden sehr wenig	0,981 gr.	
Leber . . .	—	fehlt	1,0957 gr.	nicht vorhanden

Datum.	Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
30. Mai	235 cbcm.	sauer	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedent. Menge	0,205 gr.	Mit Fleischfütterung.
1. Juni	95 cbcm.	sauer	desgl.	desgl.	0,052 gr.	
28. Octbr.	14 cbcm.	sauer	desgl.	desgl.	nicht gut krystallisirt	
20. Decbr.	22 cbcm.	sauer	desgl.	desgl.	0,027 gr.	Im Hungerzustand.

B. Versuche an Kaninchen.

Das Thier wurde mit gelben Rüben und Brod gefüttert. Der Harn wurde von Zeit zu Zeit durch Abpressen aus der Blase aufgesammelt. Leider wurde bei diesen Versuchen nicht ein Thier im Inanitionszustande verwendet.

18. Versuch.

25. Mai 1890. Kleines Kaninchen. Versuch dauerte von 9 Uhr Vormittags bis 1 Uhr Nachmittags. Während des Versuches hat das Thier bluthaltigen Urin entleert.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.
91 cbcm.	alkalisch	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedeut. Menge	0,54 gr.

Krystallwasser 18,91 %.

0,2391 milchs. Zink gaben 0,093 ZnS = 0,0623 Zn.

Gefundenes Zn: 26,056 % Berechnetes Zn: 26,74 %.

19. Versuch.

26. Mai 1890. Kleines, aber starkes Kaninchen. 9 Uhr 30 Min. Vormittags begann der Versuch. 11 Uhr Unruhe und Dyspnoe. 11 Uhr 10 Min. CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 11 Uhr 30 Min. betäubt. 12 Uhr aus dem Kasten herausgenommen, 12 Uhr 30 Min. wieder sich erholt und dann sofort hineingebracht. 1 Uhr CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 1 Uhr 50 Min. Versuch abgebrochen.

3 Uhr Nachmittags wieder angefangen. 4 Uhr vollkommen betäubt. 4 Uhr 30 Min. Luft in den Kasten durchgeführt. 5 Uhr CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. Versuch beendet um 6 Uhr 15 Min.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.
225 cbcm.	alkalisch	vorhanden in bedeut. Menge	vorhanden in bedeut. Menge	0,991 gr.

Krystallwasser des Zinklactats: 18,12 % gefunden.
0,373 trockenes milchsaures Zink gaben 0,126 ZnS = 0,0844 Zn.

Gefundenes Zink:	Berechnetes Zink:
22,627 %	26,74 %.

20. Versuch.

28. Mai 1890. Dasselbe Kaninchen wie beim 2. Versuche. 9 Uhr Vormittags in den Kasten gebracht und CO-Gas 2 Minuten lang sehr langsam durchgeleitet. 9 Uhr 40 Min. CO-Gas wieder 2 Minuten lang durchgeleitet. 10 Uhr 15 Min. Unruhe und Dyspnoe. 11 Uhr vollkommen betäubt. 11 Uhr 40 Min. 20 Minuten lang den Kasten geöffnet und ventilirt. 12 Uhr CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 12 Uhr 30 Min. CO-Gas durchgeleitet. Das Thier war von 1 Uhr bis 2 Uhr 15 Min. ganz betäubt. Der Versuch beendete um 3 Uhr.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss und Zucker.	Milchs. Zink.
227 cbcm.	alkalisch	vorhanden in bedeut. Menge	0,427 gr.

Krystallwasser: 16,21 %.

0,267 trockenes milchs. Zink gaben 0,114 ZnS = 0,0764 Zn.

Gefundenes Zink:	Berechnetes Zink:
28,61 %	26.74 %.

Datum.	Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss und Zucker.	Milchs. Zink.
25. Mai	91 cbcm.	alkalisch	vorhanden in bedeut. Menge	0,54 gr.
26. Mai	225 cbcm.	alkalisch	vorhanden in bedeut. Menge	0,991 gr.
28. Mai	227 cbcm.	alkalisch	vorhanden in bedeut. Menge	0,427 gr.

C. Versuche an Hühnern.

Die Versuche wurden an einem Huhn zuerst mit Weizenfütterung und dann im Hungerzustande angestellt, wie bei Hunden.

a) Huhn mit Weizenfütterung.

21. Versuch.

5. December 1890. 10 Uhr 50 Min. Vormittags begann der Versuch. 11 Uhr 40 Min. Dyspnoe. 12 Uhr 30 Min. betäubt. 1 Uhr 20 Min. wurde das Thier aus dem Kasten genommen, um den bei der bedeutenden Betäubung offenbar drohenden Tod zu vermeiden.

Um 2 Uhr Nachmittags wieder im Kasten, CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 2 Uhr 20 Min. CO-Gas wieder durchgeleitet. 3 Uhr Dyspnoe und Mattigkeit. 3 Uhr 20 Min. betäubt. Der Versuch war um 5 Uhr beendet.

Die Urine, welche das Thier im Kasten und nachher im Behälter mit frischer Luft gelassen hat, wurden gesammelt, gewogen und mit Alkohol versetzt. Alkoholisches Extract wurde zum Nachweis des Zuckers und der Milchsäure verwendet.

Harnmenge.	Zucker.	Milchsaures Zink.
52 gr.	vorhanden in bedeut. Menge	0,257 gr.

b) Huhn im Hungerzustande.

22. Versuch.

1. Januar 1891. Grosses Huhn. 3 Tage im Hungerzustande nur Wasser gegeben. Körpertemperatur vor dem Versuche 41°, Körpertemperatur nach dem Versuche 37°. 9 Uhr Vormittags Beginn des Versuches. 10 Uhr 20 Min. betäubt. 11 Uhr kurze Zeit durch das Zurückschieben des Deckels Luft durchgeführt. 11 Uhr 20 Min. CO-Gas 2 Minuten lang durchgeleitet. 12 Uhr 50 Min. ventilirt. 1 Uhr 15 Min. CO-Gas durchgeleitet. 2 Uhr sind die Augenlider geschlossen und das Thier umgefallen. Es wurde sofort aus dem Kasten herausgenommen und in den Behälter mit frischer Luft gesetzt. 2 Uhr 40 Min. wieder in den Kasten gebracht und CO-Gas 2 Minuten durchgeleitet. Das Thier zeigte noch Mattigkeit. Der Versuch war um 4 Uhr beendet.

Harnmenge.	Zucker.	Milchsaures Zink.
60 cbcm. neben 25 gr. Koth Beide werden vereinigt, auf dem Wasserbade eingedampft und dann mit Alkohol extrahirt. Das alkoholische Extract wurde abdestillirt und der Rückstand auf Zucker und Milchsäure geprüft	Spur alkalische Kupferlösung reducirt, aber keine Abscheidung von Kupferoxydul; durch Phenylhydrazinprobe nicht nachweisbar.	0,886 gr.

Die Resultate lassen sich in der nachstehenden Tabelle zusammenfassen.

Datum.	Harnmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
5. December	52 gr.	vorhanden in bedeutender Menge	0,257 gr.
1. Januar	60 cbcm. 25 gr. Koth	Spur	0,886 gr.

Wenn man einen Blick auf die Resultate, welche am Schlusse der Gruppen der einzelnen Versuche zusammengestellt sind, wirft, so kann man nicht mehr bestreiten, dass das Auftreten von abnormen Bestandtheilen im Harne bei CO-Vergiftung auf die Einwirkung des dabei stattgefundenen Sauerstoffmangels zurückzuführen ist, und dass die Kohlenoxydvergiftung nichts Anderes ist, als allmälige Sauerstoffentziehung aus dem Organismus. Es ist sehr beachtenswerth, dass Glycosurie bei Hungerthieren sowohl durch CO-Vergiftung, als auch durch Sauerstoffmangel nicht hervorgerufen wird, während Milchsäure unter denselben Bedingungen constant vorhanden ist.

III. Die Vergiftung mit Curare.

Bei der allmälig fortschreitenden Lähmung der willkürlichen Muskeln, wie sie durch Vergiftung mit Curare hervorgerufen wird, leidet auch sehr bald die Respiration durch Abnahme hauptsächlich der Tiefe der Inspirationszüge, und dementsprechend ist der Austauch des Blutes mit der Atmosphäre in Abgabe von CO_2 an letztere und Aufnahme von O_2 in das Blut bald unzureichend und der Tod des Thieres tritt bald ein, wenn künstliche Respiration nicht ausgeführt wird. Künstliche Respiration zur richtigen Zeit in Anwendung gezogen, ist im Stande, bei nicht übermässig starker Vergiftung den Tod lange hinauszuschieben, aber selbst bei Anwendung vortrefflicher Apparate, wie sie mir durch die gütige Gewährung derselben von Herrn Professor Goltz für die im Folgenden zu schildernden Versuche zu Gebote standen, konnte ein Mangel an Sauerstoff im Blute der Thiere nicht ganz vermieden werden. Die dunkle Färbung des Blutes lässt die ungenügende Lüftung desselben bald erkennen. Es ist nicht anders zu erwarten, als dass die Spaltungsproducte, welche beim Sauerstoffmangel im Blut und Harn auftreten, auch bei solchen Zuständen der mit Curare vergifteten There in diesen Flüssigkeiten zu finden sein werden.

Cl. Bernard[1]) ist es bereits vor langer Zeit gelungen, durch die Vergiftung des Thieres mit Curare künstlich Diabetes zu erzeugen. Ob Michsäure im Harne von demselben Thier auftritt, ist, wie es scheint, bis jetzt nicht untersucht, wenigstens habe ich keine Angaben hierüber in der Literatur gefunden. Zur Beantwortung dieser Frage habe ich die folgenden Versuche ausgeführt.

A. Versuche an Hunden.

23. Versuch.

12. December 1890. 10 Uhr Vormittags wurde Tracheotomie am Hunde gemacht und dann eine Trachealcanüle eingebunden. 10 Uhr 20 Min. Injection unter die Haut von ungefähr 3 Tropfen der verdünnten Lösung (erbsengross Curare in 20 cbcm. Wasser). Je 10 Minuten Injection von ungefähr 3 Tropfen. Bis 12 Uhr 2 Pravat-Spritzen voll injicirt. 12 Uhr Trachealcanüle vermittelst Kautschukschlauch am Apparat der künstlichen Respiration, welcher durch Wassermotor in Thätigkeit gesetzt wird, eingebunden. Um 2 Uhr 20 Minuten ist das Thier zu Grunde gegangen. Sofort das Blut aus dem Herzen herausgenommen und auf Zucker und Milchsäure untersucht. Harnblase war ganz leer.

Blutmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
42 cbcm.	0,69 %	0,130 gr.

24. Versuch.

14. Januar 1891. Hund, dessen Leberarterie unterbunden ist. Körpertemperatur vor dem Versuche 39,7° C. 11 Uhr 10 Min. Vormittags aufgebunden und Tracheotomie gemacht. Von 11 Uhr bis 12 Uhr eine halbe Spritze voll Curarelösung injicirt. Das Thier ist um 1 Uhr todt. Tracheal-

[1]) Cl. Bernard, Leçons sur le diabète et la glycosurie animale. Paris 1877.

canüle wurde schon um 12 Uhr am Respirationsapparat eingebunden. Blut auf Zucker und Milchsäure geprüft.

Blutmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
125 cbcm.	0,6 %	. 0,318 gr.

0,183 milchs. Zink gaben 0,061 ZnS = 0,0487 Zn.

Gefundenes Zn: 26,60 % Berechnetes Zn: 26,74 %.

25. Versuch.

26. Januar 1891. Grosse Hündin von 10,200 Kilo. 8 Uhr Vorm. eine halbe Spritze voll Curarelösung injicirt. 10 Uhr vollkommen gelähmt. 10 Uhr 20 Min. Tracheotomie gemacht und Trachealcanüle eingebunden. 12 Uhr 30 Min. 24 cbcm. Urin gelassen. Das Thier starb um 1 Uhr. Blut aus dem Herzen herausgenommen.

Harnmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.
25 cbcm.	sauer	fehlt	fehlt	0,0141 gr.

Blutmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
360 cbcm.	0,6 %	0,992 gr.

Es ist auffallend, dass der Zucker nicht im Harne auftrat, während das Blut bedeutende Mengen von Zucker enthielt.

B. Versuche an Fröschen.

26. Versuch.

17. November 1890. 14 Frösche 12 Stunden curarisirt, gaben 42 cbcm. Urin.

Harnmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
42 cbcm.	vorhanden in bedeut. Menge	0,035 gr.

17,2 % Krystallwasser.

27. Versuch.

21. November 1890. 11 Frösche wurden stark durch Curare vergiftet. 24 Stunden nach der Vergiftung gaben sie 36 cbcm. Urin.

Harnmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
36 cbcm.	vorhanden in bedeut. Menge	0,067 gr.

28. Versuch.

23. November 1890. Die Frösche, welche am 21. Novbr. vergiftet wurden, waren noch ganz betäubt. Sie lieferten 37 cbcm. Urin.

Harnmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
37 cbcm.	vorhanden in bedeut. Menge	0,025 gr.

Die einzelnen dargestellten Zinksalzportionen wurden vereinigt und zur Zinkbestimmung verwendet.

0,057 milchs. Zink gaben 0.022 ZnS = 0,0147 Zn.

Gefundenes Zn:	Beobachtetes Zn:
25,78 %	26,74 %.

Obwohl der gefundene Zinkgehalt etwa 1 % niedriger gefunden ist, als der aus der Formel des Zinklactats berechnete, ist nach den beobachteten Eigenschaften des krystallisirten Zinksalzes in diesen Versuchen nicht zu bezweifeln, dass es sich hier wirklich um Zinklactat handelte und dass auch bei der Curarevergiftung der Frösche Milchsäure im Harne gefunden ist.

IV. Vergiftung mit Strychnin.

Von Marcuse[1]) und dann von Werther[2]) wurde im Harne von Fröschen, welche mit Strychnin vergiftet waren, Milchsäure nachgewiesen und diese Erscheinung so gedeutet,

---

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 39, S. 443.

[2]) A. a. O.

dass durch die Thätigkeit der Muskeln im Strychnintetanus die Bildung und Ausscheidung der Milchsäure bedingt sei. Sowohl die Untersuchungen von Spiro[1]) über die Bildung von Milchsäure und Ausscheidung im Harne von Menschen bei starker Muskelthätigkeit, als auch die Arbeiten von Colasanti und Moscatelli[2]), besonders aber von Spiro über die Milchsäure im Blute von Thieren, deren Muskeln einige Zeit in Tetanus erhalten waren, schienen dieser Deutung besonders günstig.

Strychnintetanus führt aber stets eine Störung der Respiration herbei und es ist also bei dieser Vergiftung die starke Thätigkeit der Muskeln mit ungenügender Sauerstoffzufuhr combinirt. Diesen Verhältnissen entspricht das Ergebniss der folgenden zwei Versuche. Sie schliessen sich den bei einfachem Sauerstoffmangel erhaltenen und oben beschriebenen Resultaten so gut an, dass es vorläufig unnöthig erschien, noch weitere Parallelversuche in dieser Richtung anzustellen.

29. Versuch.

26. November 1890. 24 Frösche gaben, nachdem sie 24 Stunden in Strychnin sich befunden hatten, 62 cbcm. Urin.

Harnmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
62 cbcm.	vorhanden in bedeut. Menge	0,079 gr.

30. Versuch.

28. November 1890. 24 Frösche, welche beim 1. Versuche stark vergiftet waren, zeigten noch heftigen Tetanus. Sie lieferten 70 cbcm. Urin.

Harnmenge.	Zucker.	Milchs. Zink.
70 cbcm.	vorhanden in bedeut. Menge	0,043 gr.

[1]) Spiro, Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. 1, S. 111.

[2]) S. Moleschott, Untersuchungen zur Naturlehre etc., Bd. XIV, Heft 1, S. 2.

V. Harn, welchen Epileptiker direct nach dem Anfall entleert hatten.

Da im epileptischen Anfalle die Respiration eine nicht geringe Störung erleidet, war anzunehmen, dass eine Einwirkung von Sauerstoffmangel, wenn auch vielleicht in geringem Grade, sich zeigen würde. Drei Portionen von Harn, welche von den Kranken bald nach dem Anfalle gelassen wurden und frisch zur Untersuchung genommen werden konnten, haben diese Annahme bestätigt. Es wurden in diesen Fällen gefunden:

Datum.	Harnmenge.	Reaction.	Zucker.	Eiweiss.	Milchs. Zink.
16. Novbr.	600 cbcm.	sauer	fehlt	vorhanden sehr wenig	0,132 gr.
21. Novbr.	227 cbcm.	sauer	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,998 gr.
25. Novbr.	324 cbcm.	sauer	fehlt	vorhanden sehr wenig	nicht gut krystallisirt

0,207 gr. milchs. Zink, gewonnen aus dem Harne vom 21. November, gaben:

0,0822 ZnS = 0,055 Zn.

Gefundenes Zn:	Berechnetes Zn:
26,705 %	26,74 %.

Zucker wurde in diesen Urinen nicht gefunden, wahrscheinlich ist die Dauer der Respirationsbehinderung zu kurz, als dass eine bemerkbare Glycosurie resultiren könnte.

Zusammenstellung der Resultate und Folgerungen aus denselben.

Die geschilderten Versuche an Hunden, Kaninchen und Hühnern beweisen übereinstimmend, dass bei guter Ernährung derselben, aber Respiriren in einer Atmosphäre, deren Sauerstoffgehalt bedeutend verringert ist, Milchsäure, Glycose und beim Erhitzen gerinnendes Albumin in den Harn übergehen.

Weder vor dem Versuche, noch einige Zeit nach demselben waren die genannten Stoffe im Harne dieser Thiere zu finden. Trat der Tod der Thiere in Folge zu starker Sauerstofferniedrigung oder durch besondere Zufälle ein, so fanden sich Zucker und Milchsäure im Blute.

Es ist nach diesen Resultaten als erwiesen anzusehen, dass bei ungenügender Sauerstoffzufuhr zu den lebenden Organen der Thiere die genannten Stoffe aus dem Blut in den Harn übergehen, und weil das Blut im normalen Zustande nur Spuren von Glycose und Milchsäure enthält, ist nicht zu zweifeln, dass dieselben durch den Sauerstoffmangel veranlasst sind, aus den Organen in das Blut und von da in den Harn abzufliessen.

2. Waren die Thiere krank (Hund im Versuch No. 8) oder seit einer Reihe von Tagen im Hungerzustande (Hund in Versuch No. 11 und Huhn in Versuch No. 13), so wurde bei dem Sauerstoffmangel im Harne wohl Milchsäure und Albumin, aber keine Glycose gefunden.

3. Die Versuche, welche an Hunden, Kaninchen und Hühnern mit Kohlenoxyd angestellt sind, haben die gleichen Verhältnisse ergeben wie bei dem Respiriren einer sehr sauerstoffarmen Luft, indem auch hier die Thiere bei guter Ernährung Glycose, Milchsäure, Albumin im Harne zeigten, bei andauerndem Hunger in der Kohlenoxydvergiftung keine Glycose, wohl aber Milchsäure und Albumin.

4. Bei Vergiftung mit Curare und entsprechender künstlicher Respiration fand sich bei Hunden sehr mangelhafte Secretion von Harn, im Blute dagegen Zucker und Milchsäure. Bei Fröschen wurde Glycose und Milchsäure gefunden.

5. Bei Strychninvergiftung von Fröschen wurde Glycose und Milchsäure im Harne nachgewiesen.

6. Im Harne von Epileptikern wurde in 3 Fällen, in denen der Harn, alsbald nach dem Anfalle gelassen, zur Untersuchung kam, Eiweiss und Milchsäure, kein Zucker gefunden.

Es ist hier zunächst daran zu erinnern, dass bereits manche Versuche über die Einwirkung des Sauerstoffmangels auf die chemischen Processe im Organismus ausgeführt sind.

In einer Arbeit von Stroganow[1]) ist im Wesentlichen der gleiche Apparat angewendet, wie ich ihn benutzt habe, nur befanden sich die Thiere in einer allseitig dicht abgeschlossenen Glasglocke, aufgesetzt auf eben geschliffener Glasplatte. Die Zwecke dieser Untersuchungen betrafen aber die Verhältnisse der Respiration und für unsere Versuche ist nur das Resultat von Stroganow verwendbar, dass bei der in obiger Weise hergestellten Apparatanordnung der Tod eintritt, wenn der Sauerstoffgehalt der Athemluft auf ungefähr 3,5% gefallen ist.

Aus den Versuchen von Pflüger[2]) und Aubert[3]) an Fröschen in sauerstofffreier Luft, und besonders aus den Untersuchungen von Herter[4]) an Warmblütern in einem nach Regnault's Princip construirten Respirationsapparate ergiebt sich, dass in der Exspirationsluft reichlich CO_2 ausgeschieden wird, wenn der Sauerstoffgehalt der Athemluft sehr erniedrigt oder gar, wie in Pflüger's und Aubert's Versuchen, ganz aufgehoben ist.

Es sind dann besonders von A. Fränkel[5]) an Warmblütern Versuche angestellt, in denen entweder das Versuchsthier mit Kohlenoxyd vergiftet oder der Sauerstoffmangel durch Verengerung der Trachealfistel, durch welche die Thiere athmeten, herbeigeführt war. Bei der letzteren Versuchsanordnung war eine Anhäufung von CO_2 im Blut des Thieres nicht ausgeschlossen; die Resultate konnten deshalb nicht ohne Weiteres auf den Sauerstoffmangel allein bezogen werden.

Fränkel fand eine Steigerung der Harnstoffausscheidung in diesen Versuchen.

---

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 12, S. 18, mit Abbildung des Apparates.
[2]) Pflüger's Archiv, Bd. 10, S. 314.
[3]) Ebendaselbst, Bd. 26, S. 304.
[4]) Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, S. 990.
[5]) Virchow's Archiv, Bd. 67, S. 273.

Weitere Experimente über die Einwirkung des Sauerstoffmangels auf den Stoffwechsel sind von Penzoldt und Fleischer[1]) angestellt.

Leider ist auch in diesen Versuchen die Anhäufung exspirirter CO_2 im Athemraume und sonach auch im Blute der Versuchsthiere nicht vermieden. Die sehr umfassenden fleissigen Versuche haben zu Resultaten geführt, welche weder mit denen von Fränkel, noch mit den von mir erhaltenen übereinstimmen.

Ueber das Auftreten von Zucker im Harne von mit CO vergifteten Thieren ist seit dem ersten Nachweis dieser Wirkung des Kohlenoxydes durch Senff viel experimentirt und speciell nachgewiesen, dass bei dieser Vergiftung der Zucker im Harne fehlt, wenn die Thiere eine genügende Reihe von Tage vor der Vergiftung gehungert hatten.

Hinsichtlich der Milchsäureausscheidung im Harne bei Sauerstoffmangel sind mir frühere Untersuchungen nicht bekannt, dagegen sind über die Beziehungen des Gehaltes an Milchsäure in den Muskeln und im Harne bei Ruhe und bei Thätigkeit der Muskeln noch in neuester Zeit eingehende Untersuchungen ausgeführt von Marcuse[2]), Nebelthau[3]) und M. Werther[4]), auf welche wir etwas näher eingehen müssen.

Marcuse fasst nach seinen Untersuchungen die Resultate in folgende 4 Sätze zusammen:

1. Bei der Thätigkeit des Muskels wird Fleischmilchsäure gebildet.

2. Der bei Weitem grösste Theil der so gebildeten Milchsäure wird in der Leber des Frosches zerstört.

3. Ein kleiner Theil derselben geht in den Harn des Frosches über in Folge einer eigenthümlichen Gefässanordnung.

4. Der Harn des thätigen Säugethieres ist milchsäurefrei.

---

[1]) Virchow's Archiv, Bd. 87, S. 3.
[2]) Pflüger's Archiv, Bd. 39, S. 425.
[3]) Zeitschrift für Biologie, Bd. 25, S. 122.
[4]) Pflüger's Archiv, Bd. 46, S. 53.

Nebelthau überzeugt sich an einer sehr grossen Quantität Harn von Fröschen, dass dieser Harn Milchsäure nicht enthielt, exstirpirte dann an 265 Fröschen die Leber, sammelte während 4 Tagen ihren Harn und erhielt aus 7,8 Liter Harn 0,1279 gr. wahrscheinliches Zinklactat.

Werther kommt zu den Resultaten:

1. Bei der Todtenstarre und bei der Thätigkeit des Muskels wird dieselbe Säure, Milchsäure, gebildet.

2. Beim Kaltblüter tritt, wie dies Marcuse bereits behauptet, von Nebelthau bestritten wurde, unter gewissen Bedingungen im Harne Milchsäure auf.

3. Bei der Starre nimmt der Procentgehalt des Muskels an Glycogen ab. Es ist dies auch bei absoluter Ausschliessung der Fäulniss bewiesen.

Bei meinen oben geschilderten Versuchen mit sauerstoffarmer Luft im Raume, in welchem die Thiere athmeten, ebenso wie bei Kohlenoxydvergiftung zeigte sich zuerst die Frequenz des Athmens erhöht und dann bei zunehmender Schwäche des Thieres zwar eine Verminderung der Athemfrequenz, aber Vertiefung der Athemzüge. Es könnte nun hiernach erscheinen, als sei die Ursache des Ueberganges von Milchsäure in den Harn in der angestrengten Muskelthätigkeit bei dieser Dyspnoe zu finden. Dieselbe Erklärung würde dann besonders passend erscheinen für den beobachteten Uebergang von Milchsäure in den Harn von Fröschen bei Strychninvergiftung, welche vor meinen Versuchen bereits von Marcuse und ebenso von Werther beobachtet und beschrieben ist. Diese Erklärungsweise wird aber vollkommen unzulänglich hinsichtlich des gleichen Ueberganges von Milchsäure in den Harn bei Curarevergiftung, bei welcher die Muskeln in möglichster Ruhe verharren. Uebereinstimmend bei allen diesen genannten Einwirkungen ist allein der Sauerstoffmangel, der in meinen ersten Versuchen durch die Aenderung in der Zusammensetzung der Athemluft, in den Versuchen mit Kohlenoxydvergiftung durch die Verbindung des Kohlenoxydes mit dem Blutfarbstoff, bei

Curare durch die Lähmung und bei der Strychninvergiftung durch den Tetanus der Respirationsmuskeln herbeigeführt ist. Bei den Epileptischen wird durch den Krampfanfall eine Zeit lang das Athmen unterdrückt oder unzureichend und hierdurch der Sauerstoffmangel herbeigeführt.

Durch die beschriebenen Versuche ist sonach so entschieden, als überhaupt an lebenden Thieren ein Beweis über den Zusammenhang der Bildung von Stoffen mit den gegebenen Verhältnissen erbracht werden kann, dargethan, dass bei Sauerstoffmangel Milchsäure relativ reichlich im Blute vorhanden ist und in nicht geringer Menge in den Urin übertritt. Entsprechend diesem Uebergang von Säure in den Harn wird im letzteren eine Zunahme von Ammoniak als Sättigung der Milchsäure nachzuweisen sein. Ein paar von mir in dieser Richtung angestellte Versuche gaben das erwartete Resultat bei der Vergleichung des Ammoniakgehaltes im Harne des Thieres vor dem Versuche und im Harne desselben bei Herstellung des Sauerstoffmangels. Die von A. Fränkel gefundene Vergrösserung der Harnstoffausscheidung bei Sauerstoffmangel eines Thieres wird also im Ganzen einer noch mehr erhöhten Stickstoffausscheidung entsprechen. Es wird dies durch weitere Versuche festzustellen sein.

Von der Abnahme der Körpertemperatur des Thieres während der Einwirkung des Sauerstoffmangels habe ich mich in wenigen Bestimmungen beim Hunde und am Huhn überzeugt (Versuch No. 10 und 13—22).

Nach der bis jetzt gewonnenen Kenntniss der Vorgänge in den lebenden Organen wird man geneigt sein, anzunehmen, dass die bei Sauerstoffmangel in den Harn übertretende Milchsäure in den Muskeln entstanden sei. Ein Theil derselben kann jedoch sehr wohl aus verschiedenen anderen Organen herstammen, denn sie werden wohl alle sauer bei der Todtenstarre unter Bildung von Milchsäure, welche, indem sie dem in jeder Zelle vorhandenen PO_4K_2H Kalium zu ihrer Sättigung entzieht, durch die Bildung von PO_4KH_2 die saure Reaction veranlasst.

Ist bei ungestörter Circulation genügender Zutritt von Sauerstoff zu den Organen vorhanden, so wird auch bei starker Thätigkeit der Muskeln Milchsäure nicht im Harne gefunden, während im Blute gleichfalls früher kaum Spuren entdeckt waren.

Von Gaglio[1]) sind zwar im normalen arteriellen Hundeblut recht wohl bestimmbare, aber doch geringe Quantitäten von Milchsäure gefunden, aber es geht aus den Angaben nicht hervor, ob nicht bei der Entnahme des Blutes von dem Thier eine Störung des Sauerstoffzutritts zur Lunge oder starke Muskelanstrengungen den Milchsäuregehalt des Blutes beeinflusst haben. Muskelanstrengung wird möglichst vermieden sein, weil hervorgehoben wird, dass die Thiere sich vorher länger in der Ruhe befunden haben. Spiro fand zweifelhafte Spuren von Milchsäure im Harne von Menschen nach sehr andauernder Muskelthätigkeit.

Hinsichtlich des Ueberganges von Zucker in den Harn bei Curarevergiftung spricht bereits Zuntz die Vermuthung aus, dass derselbe durch Sauerstoffmangel veranlasst sei, ebenso wie bei Kohlenoxydvergiftung, es werden auch von Zuntz ein paar Versuche beschrieben, welche diese Ansicht unterstützen.

Wie es früher bereits hinsichtlich der Zuckerausscheidung durch den Harn bei Kohlenoxydvergiftung ermittelt ist, hat es sich im Allgemeinen bei dem Sauerstoffmangel herausgestellt, dass nur wohlgenährte und gesunde Thiere Uebergang von Zucker in den Harn zeigen. Die Glycosurie scheint sonach im Zusammenhang zu stehen mit dem reichlichen Gehalte der Leber und anderer Organe an Glycogen.

Man kann den Zucker als ein Zwischenproduct der Milchsäurebildung aus Glycogen ansehen, es kann aber auch der Zucker in der Leber entstehen, die Milchsäure dagegen in den Muskeln und anderen Organen. Eine Entscheidung über diese genetische Stellung der Milchsäure zum Zucker

---

[1]) Archiv für Anatomie u. Physiologie, 1886, Physiologische Abtheilung, S. 400.

kann aus den von mir angestellten Versuchen nicht entnommen werden. Dass jedoch die Ausscheidung der Milchsäure durch die Nieren schon bei schwächerem Sauerstoffmangel erfolgt, als die Ausscheidung von Zucker, kann aus den obigen Versuchsresultaten mit einiger Sicherheit geschlossen werden. So ist es auch zu erklären, dass bei Strychninvergiftung Frösche Milchsäure und Zucker im Harne liefern, nach epileptischen Anfällen beim Menschen wohl Milchsäuregehalt, im Harne aber keine Glycosurie gefunden ist. Auch die Versuche an Hunden sprechen für diese Ansicht.

Dass der Harn bei Sauerstoffmangel coagulirbare Eiweissstoffe enthält, ist bereits durch frühere Untersuchungen erwiesen. Max Herrmann's Versuche haben bereits ergeben, dass nach Unterbrechung der arteriellen Blutzufuhr zur Niere für kurze Zeit der erste Harn, welcher bei Wiedereröffnung der Blutcirculation erscheint, eiweisshaltig ist. Seitdem ist in mehreren Arbeiten von dieser Beziehung die Rede gewesen. Kein Organ im normalen Körper erhält mehr Sauerstoff als die Epithelien im Anfang des Harnkanälchen durch das Transsudat, welches im Glomerulus durch die Wandung der Arteriellenschlinge hindurch sickert.

Es ist anzunehmen, dass bei der Einwirkung von Amylnitrit, bei der Morphinvergiftung und vielleicht auch bei der Phosphorvergiftung gleichfalls der Uebergang von Zucker und Milchsäure in den Harn durch Sauerstoffmangel bewirkt wird. Bei der Phosphorvergiftung ist die Milchsäure im Harne bereits längst gefunden, die Verhältnisse sind aber hier ganz eigenthümliche, und ein eigentlicher Sauerstoffmangel nicht nachgewiesen.

Ich behalte mir spätere Mittheilung über diese Fragen, deren Bearbeitung ich bereits begonnen habe, vor.

Beim Schlusse dieser Arbeit sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Hoppe-Seyler, für die freundliche Unterstützung bei Anfertigung dieser Arbeit meinen besten und innigsten Dank abzustatten.

Ueber die Ausscheidungsverhältnisse des Eisens.

Von

Dr. R. Gottlieb,
Assistent des pharmakologischen Institutes zu Heidelberg.

(Aus dem pharmakologischen Institut zu Marburg.)

(Der Redaction zugegangen am 2. März 1891.)

Die Frage nach der Resorbirbarkeit der Eisensalze ist trotz ihrer hohen therapeutischen Bedeutung noch heute unentschieden[1]). Die Schwierigkeiten, die ihrer Lösung entgegen stehen, sind bekannt. Eine der wichtigsten derselben ist die Unkenntniss der Ausscheidungsverhältnisse des circulirenden Eisens. «Die Frage nach der Resorbirbarkeit der Eisenverbindungen lässt sich nicht entscheiden, so lange die Vorfrage nach den Ausscheidungsverhältnissen des Eisens nicht sicher entschieden ist»[2]) (Bunge).

Den Nieren kommt die Fähigkeit der Eisenausscheidung gewiss nur in sehr geringem Masse zu. Der normale Eisengehalt des Harns ist ein minimaler. Auch nach intravenöser und subcutaner Injection einer neutralen Eisenverbindung fand Jakobj[3]) nur 2—4% des eingeführten Eisens im Harn wieder — und auch dies nach bereits vergiftenden Gaben. Dementsprechend stimmen alle neueren Arbeiten darin überein, dass selbst nach fortgesetzter, interner Eisenzufuhr eine Steigerung der Eisenausscheidung im Harn nicht eintritt.

---

[1]) Vgl. Bunge, Lehrbuch d. physiol. u. pathol. Chemie, Leipzig 1887.
[2]) A. a. O., S. 89.
[3]) Ueber die Eisenausscheidung aus d. Thierkörper, Dissert. inaug., Strassburg 1887.

Hingegen sahen viele Autoren (A. Mayer, Quincke u. A.) das Eisen nach intravenöser und subcutaner Einverleibung im Darminhalte wieder erscheinen; über die Wege jedoch, durch die es dahin gelangt, sind die Angaben sehr widersprechend. Während Quevenne, Lussana, Papi u. A. die Ausscheidung durch die Galle annahmen, kamen Buchheim und Mayer[1]) auf Grund ihrer Versuche zu der Ansicht, dass nicht blos die Galle, sondern vor Allem die Schleimhaut des Darmkanals die Ausscheidung des eingeführten Eisens besorge. Schon früher hatte Cl. Bernard nach gleichzeitiger Injection von milchsaurem Eisen und Ferrocyankalium in die Venen Blaufärbung des Pylorus und der Curvatura minor wahrgenommen; Kölliker nnd Müller wiederholten indess diesen Versuch Bernard's mit negativem Resultate.

Buchheim und Mayer erwiesen die Ausscheidung des intravenös injicirten Eisens auf der Darmfläche durch den qualitativen Nachweis mittelst Schwefelammon. Mit diesem Resultate steht ein Versuch von Quincke[2]) im Widerspruch, der das Eisen nach Einspritzung in das Blut in dem Secrete einer Thiry'schen Darmfistel nicht nachweisen konnte; andererseits beobachtete er auch auf der normalen Darmschleimhaut Grünfärbung durch Schwefelammonium. Die enorme Empfindlichkeit dieser Probe, welche bei Gegenwart weniger Milligramme durch die Intensität der Färbung leicht zu Täuschungen über die Quantität des nachgewiesenen Eisens führt, lässt jedenfalls die Frage unentschieden, ob erhebliche Eisenmengen den Organismus auf diesem Wege verlassen. Aus neuerer Zeit liegt eine negative Angabe von Zaleski[3]) vor, auf die wir noch zurückkommen.

Quantitative Untersuchungen über den Eisengehalt des Darminhalts nach intravenöser und subcutaner Injection sind bisher nicht angestellt. Um diese Lücke auszufüllen und womöglich festzustellen, welchen Weg die Eisensalze bei ihrer

---

[1]) De ratione qua ferum mutetur in corpore, Dissert inaug., Dorpat 1850.

[2]) Du Bois-Reymond's Archiv, 1868, S. 150.

[3]) Archiv für experiment. Path. u. Pharmak., Bd. XXIII, S. 317.

Ausscheidung nehmen, wurde die folgende Arbeit unternommen.

Zur Injection wurde ein organisches Metalldoppelsalz in schwach alkalischer Lösung und zwar das weinsaure Eisenoxydnatron angewandt, dessen Vorzüge seit Meyer und Williams bekannt sind.

Die als Versuchsthiere benützten Hunde wurden in vollkommen eisenfreien Käfigen gehalten, die aus Holz mit starken eingekitteten Glaswänden gefügt sind. Eine doppelte Neigung der Bodenplatte gestattet das getrennte Aufsammeln von Koth und Harn; der letztere floss stets anstandslos in die darunterstehende Schale ab.

Bei quantitativen Bestimmungen erscheint es doppelt geboten, vor den Versuchen kurz die Methode anzuführen, die bei der Einäscherung der Gewebe und Excrete, sowie zur Bestimmung des enthaltenen Eisens angewandt wurden. Die Gewebe wurden nur in blutfreiem Zustande untersucht. Die Leber, auf deren Untersuchung wir das Hauptgewicht legten, wurde nach dem möglichst vollständigen Verbluten des Hundes sogleich herausgenommen und durch Durchleitung mit Kochsalzlösung blutfrei gemacht. Auch die Darmwand war in Folge der krampfhaften Contraction der Bauchgefässe während der Verblutung nahezu blutleer und konnte nach sorgfältiger Abtrennung von dem Mesenterium und seinen Gefässen und nach mehrfachem Abspülen der Innenfläche frei von Inhalt und Blut untersucht werden.

Die Einäscherung geschah in einer irdenen Muffel; um die Bildung pyrophosphorsauren Eisens zu vermeiden, wurde nach der Vorschrift Bunge's kohlensaures Natron zugesetzt. Zur quantitativen Bestimmung des Eisens in der salzsauren Aschenlösung endlich bediente ich mich einer Methode, die von mir in Prof. E. Ludwig's Laboratorium ausgearbeitet und anderenorts bereits veröffentlicht ist[1]). Das Eisen wird ohne Rücksicht auf die in der Aschenlösung wechselnden Mengen von Kalk und Phosphaten als Berlinerblau ausgefällt und nach der Zerlegung als Eisenoxyd gewogen. In Bezug

[1]) Archiv für experiment. Path. u. Pharmak., Bd. XXIV, S. 139.

auf die näheren Details des Verfahrens[1]), sowie auf die Beleganalysen für die Genauigkeit der Methode kann ich auf die angeführte Arbeit verweisen; durch zahlreiche Parallelbestimmungen konnte ich mich aber auch bei den folgenden Analysen von der Brauchbarkeit der Methode und der Verlässlichkeit ihrer Resultate überzeugen.

1. Versuch.

Subcutane Injection von 100 mgr. Eisen.

Ein Hund von 8,950 Kilio Gewicht, dessen Darm durch eine mehrtägige Hungerperiode und wiederholtes Abführen durch Glaubersalz vorher entleert wurde, erhält vom 14./III. an eine sehr eisenarme (1,5—2,0 mgr. pro die) Nahrung (100 gr. Stärkekleister aus Weizenstärke, 50 gr. Schmalz und 50 gr. durch Coagulation der Milch mit Essigsäure abgeschiedene «Topfen»). Diese Nahrung wird täglich vollständig und mit grosser Begierde verzehrt. Vom 22./III. bis 28./III. erhält er täglich in 7,86 cbcm. der Eisenlösung 11,5 mgr. Eisen subcutan, am 29. und 30./II. je 10,2 mgr. Eisen, im Ganzen in 9 Tagen 100 mgr. Eisen. Die Injectionen werden vorzüglich ertragen; keine Abscesse oder Schmerz an den Applicationsstellen, von denen nach 1—2 Tagen Alles resorbirt ist. Keinerlei Vergiftungserscheinungen. Hund vollkommen munter, verzehrt sein Futter. Weder Erbrechen, noch Durchfall. Der Harn enthält niemals Eiweiss. Nach der Eisenperiode wird ihm die eisenarme Nahrung noch 26 Tage lang verabreicht und ohne Störung vertragen. Gewicht am Ende des Versuches = 8,600 Kilo.

Im Harn wurden während 9 Tagen vor der Injection 10,2 mgr., während der 9 Injectionstage 6,3 mgr. Eisen aus-

[1]) Es mag hier der Hinweis darauf Raum finden, dass der anfangs grobflockige Niederschlag von Ferrocyanzink, durch welchen das Berlinerblau zusammengehalten und filtrirbar gemacht wird, nach längerem Stehen eine krystallinische Beschaffenheit annimmt. Dann erhält man kein farbloses Filtrat. Durch Zusatz einiger Tropfen Ferrocyankalium entsteht aber von Neuem eine flockige Fällung und geht die Filtration wieder anstandslos von Statten.

geschieden. Die bei der Analyse der Fäces erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Datum.	Gewicht der Fäces.	Trocken-substanz.	Eisengehalt.	Eisen pro die.	Durch-schnittsgehalt pro die.	Bemerkungen.
21./III. Ab.	45,15	24,09	21,2 mgr.	3,5 mgr.	Während d. Vorperiode (6 Tage) = 3,5 mgr.	
23./III. Ab.	35,83	13,43	24,9 mgr.	12,45 mgr.	Während der Eisenperiode (9 Tage) = 6,8 mgr.	Vom 22. bis zum 28. täglich 11,5 mgr., am 29. u. 30. 10,2 mgr. durch subcutane Injection einverleibt.
25./III. »	25,65	13,32	13,2 »	6,6 »		
27./III. »	30,25	15,70	11,9 »	5,9 »		
30./III. »	21,82	12,55	12,0 »	6,0 »		
2./IV. Ab.	42,93	24,75	30,5 mgr.	10,2 mgr.	Während einer Nachperiode (19 Tage) = 6,6 mgr.	
5./IV. »	33,33	27,27	15,0 »	5,0 »		
7./IV. »	42,01	30,30	18,8 »	9,4 »		
11./IV. »	39,49	20,99	24,8 »	6,2 »		
15./IV. »	29,55	15,19	22,0 »	5,5 »		
19./IV. Mg.	28,30	13,98	15,0 »	5,0 »		
21./IV. Mg.	24,20	11,69	7,8 mgr.	3,9 mgr.	Während folgender 14 Tage = 2,8 mgr.	
25./IV. Ab.	15,19	8,45	10,0 »	2,5 »		
2./V. »	—	—	22,6 »	3,2 »		

Resultat:

Innerhalb 28 Tagen nach der ersten Eiseninjection ausgeschieden	183,1 mgr. Eisen,
Normalausscheidung für 28 Tage (nach Vor- und Nachperiode berechnet)	86,2 » »
Demnach von 100 mgr. injicirten Eisens aus den Fäces wiedererhalten	96,9 mgr.

Schon dieser Versuch zeigt, dass die Ausscheidung des in den Säftestrom eingeführten Eisens in den Darmkanal erfolgt. Nach subcutaner Injection von 100 mgr. während 9 Tagen stieg der Eisengehalt der Fäces während dieser und den folgenden Tagen auf etwa das Doppelte. Ferner geht aber aus dem Versuche hervor, dass diese Ausscheidung durch den Darm nur sehr allmälig erfolgt und demgemäss lange Zeit andauert; denn noch 19 Tage nach der letzten

Eiseninjection bleibt die Eisenausfuhr gesteigert, um erst nach dieser Zeit auf den früheren Werth herabzugehen. Bei chronischer subcutaner Vergiftung mit kleineren Dosen verhält sich somit die Eisenausscheidung ähnlich der des Quecksilbers, welches ja bekanntlich noch lange nach der Einführung in Harn und Darminhalt nachweisbar bleibt.

An und für sich war die Eisenausfuhr während der gleichmässigen Fütterung mit eisenarmer Nahrung eine sehr geringe. Dennoch übertrifft die Eisenausscheidung die Einnahme, so dass der Hund von seinem Eisenbestande abgeben musste, da die tägliche Eisenmenge im Futter nur 1,5—2,0 mgr. betrug. Dieses Resultat stimmt vollkommen mit einem Versuche Dietl's[1]) überein, der bei ähnlicher Fütterung auch eine fast identische Normalzahl der Eisenausfuhr erhielt.

Von 100 mgr. Eisen, die injicirt worden waren, erschienen 96 mgr. in den Fäces wieder. Da indess die allmälige Ausscheidung mit der prompten Resorption nicht Schritt hielt, so hätten auch die täglichen Injectionen zu einer Anhäufung des Eisens im Blute und somit zu Vergiftungssymptomen führen müssen, wenn nicht das Metall in ein anderes Gewebe aus dem Blute abgelagert und so der Allgemeinwirkung entzogen wurde.

Um deshalb die Vertheilung und Ausscheidung des eingeführten Eisens weiter zu verfolgen, wurde der Eisengehalt der Excrete, sowie der blutfrei gemachten Organe nach intravenöser Injection untersucht. Der Vergleich der erhaltenen Zahlenwerthe mit dem physiologisch je nach den wechselnden Bedingungen schwankenden Eisengehalte bietet hier eine gewisse Schwierigkeit. Die Versuchsthiere mussten bei einem möglichst gleichartigen Zustande ihres Stoffwechsels und insbesondere mit einem möglichst eisenfreien Darminhalte in den Versuch eintreten; drei Versuche sind deshalb an Hungerthieren ausgeführt, deren Darm vorher durch wiederholtes

---

[1]) Sitzungsberichte d. Acad. d. Wissenschaften zu Wien, 1875, LXXI. Bd., S. 420.

Abführen (mittelst Glaubersalz) entleert wurde, zwei weitere Versuche an Hunden, deren fast eisenfreie Nahrung (Speck mit Calc. carbon. gemischt) eine genaue Abgrenzung des Kothes von den voraufgehenden Fäces gestattete.

Eine zweite Schwierigkeit lag in der heftigen Giftwirkung des in die Blutbahn eingeführten Eisens; wird hierdurch der Blutdruck zu stark herabgesetzt, so kann bei dem Darniederliegen des Kreislaufs nicht mehr auf normale Ausscheidungsverhältnisse gerechnet werden. Andererseits musste aber die eingeführte Eisenmenge doch gross genug sein, um auch nach der Vertheilung im Organismus noch deutliche, quantitative Unterschiede gegenüber den physiologischen Werthen hervortreten zu lassen. Durch eine ganz allmälige Einführung des Giftes war dies möglich. Es konnten den Hunden so 100—200 mgr. innerhalb zweier Tage in die Vena saphena injicirt werden, ohne irgend erhebliche Vergiftungserscheinungen hervorzurufen [1]), wenn etwa je 50 mgr. aus einer graduirten Burette im Verlaufe von 40—60 Minuten in die Vene einliefen. Auf diese Weise wurden alle Darmerscheinungen vermieden und auch bei der Section niemals Ecchymosen oder Blutungen in der Darmschleimhaut gefunden.

II. Versuch.

Intravenöse Injection von 200 mgr. Eisen.

Einem Hunde von 17,9 kgr. wird vom 31./III. an die Nahrung entzogen. Mehrmals (am 1./IV., 11. und 13./IV.) wird durch Glaubersalz der Darm entleert; in der letzten Kothentleerung kommt verfüttertes Knochenmehl rein zum Vorschein. Gewicht nach 16tägiger Hungerperiode = 14,870 gr.

Der Hund erhält am 15. und 16./IV. je 100 mgr. Eisen in die Vena saphena injicirt.

---

[1]) Bei einem Thiere trat allerdings nach Injection von 120 mgr. Apathie, Schwäche u. s. w. ein und bei der Section fand sich blutiger Inhalt des Dickdarms. Der Hund hatte gleichzeitig Schwefel in Pillen erhalten. Die Resultate dieses Versuches sind nicht verwerthet.

Keine Vergiftungserscheinungen; der Hund bleibt bei dem früheren Kräftezustand. Der Harn enthält kein Eiweiss. Am 17./IV. wird der Hund verblutet. Bei der Section finden sich nirgends Hyperämie oder Ecchymosen der Darmschleimhaut; der Dünndarm ist vollkommen leer, der Dickdarm mit dunklen und übelriechenden, schmierigen Massen belegt. Es wurden gefunden im:

Dickdarminhalt: 57,5 mgr. — 1. Best.: 58,0 mgr. 2. Best.: 57,1 » — Dünndarminhalt: 1,6 mgr.

Dickdarmwand: 0,9 mgr. — Dünndarmwand: 8,1 mgr.

Leber: 230,4 mgr. — 1. Best.: 230,7 mgr. 2. Best.: 230,1 » — Galle: Eisen nur qualitativ nachweisbar.

Harn: 4,5 mgr.

III. Versuch.

Intravenöse Injection von 100 mgr. Eisen.

Ein Hund von 14 kgr. 870 gr. hungert seit dem 20./III.; Darm mehrmals durch Glaubersalz entleert; er erhält am 28. und 29./III. zusammen 100 mgr. Eisen in die Vena saphena. Am 30./III. wird er durch Verbluten getödtet. Sectionsbefund normal. Es wurden gefunden im:

Dickdarminhalt: 75 mgr. — 1. Best.: 75,5 mgr. 2. Best.: 74,6 » — Dünndarminhalt: 10,0 mgr.

Dickdarmwand: 2,6 mgr. — Dünndarmwand: 7,7 mgr.

Leber: 94 mgr. — 1. Best.: 94,2 mgr. 2. Best.: 93,8 »

IV. Versuch.

Intravenöse Injection von 145 mgr. Eisen.

Ein Hund von 8,5 kgr. hungert vom 22./IV. an. Da Glaubersalz in Folge eintretenden Erbrechens unwirksam blieb, wurde am 3./V. eine hohe Darmausspülung vorgenommen. Reichliche Kothentleerungen folgten. Am 5. und 6./V. erhält der Hund zusammen 145 mgr. Eisen. Am 8./V. trat Erbrechen ein (35 cbcm. Flüssigkeit). Am 10./V. (nach 18tägiger Hungerperiode) wird der Hund verblutet. Normaler Sectionsbefund.

Es wurden gefunden im:

Dickdarminhalt: 13,09 mgr. Dünndarminhalt: 8,0 mgr.
Dickdarmwand: 1,3 » Dünndarmwand: 4,0 »

Leber: 133,1 mgr. 1. Best.: 131,8 mgr. 2. Best.: 134,4 » Mageninhalt: nicht nachweisbar.

Galle: nur qualitativ nachweisbar.
Am 8./V. erbrochener Mageninhalt: 15,29 mgr.

V. Versuch.

Intravenöse Injection von 200 mgr.

Ein Hund von 12 kgr. 700 gr. Gewicht hungert seit 29./IX. Nach einmaliger Darmentleerung mittelst Glaubersalz wird durch Calc. carbon. puriss. mit Fett gemengt eine gute Abgrenzung erzielt. Vom 6./X. an erhält der Hund täglich 100 gr. Speck und 5 gr. Calc. carbon. gemischt. — Am 20. und 21./X. wird dem Hunde zusammen 200 mgr. Eisen injicirt. Am 25./X. wird er verblutet. (Der Hund erhielt vom 15./X. an auch täglich 0,5 Schwefelblüthe.)

Es wurden gefunden im:

Dickdarminhalt: 54,5 mgr. 1. Best.: 55,0 mgr. 2. Best.: 54,1 ». Dünndarminhalt: 9,1 mgr.
Dickdarmwand: 2,5 mgr. Dünndarmwand: 9,8 mgr.

Leber: 99,9 mgr. 1. Best.: 99,6 mgr. 2. Best.: 100,2 »

VI. Versuch.

Intravenöse Injection von 200 mgr. Eisen.

Ein Hund von 11 kgr. 100 gr. hungert seit 29./IX. Nach der Entleerung des Darmes mit Glaubersalz erhält er die gleiche tägliche Nahrung wie der Hund im vorhergehenden Versuche. Nach Injection von 200 mgr. am 20. und 21./X. wird er am 24./X. durch Verbluten getödtet.

Es wurden gefunden im:

Dickdarminhalt: 65,0 mgr. Dünndarminhalt: 8,7 mgr.
Dickdarmwand: 4,0 » Dünndarmwand: 10,4 »

Leber: 189,2 mgr.

VII. Versuch.

Controlversuch am Hungerthiere.

Ein Hund von 13 kgr. 350 gr. hungert seit 18./IV. Nach mehrfacher Entleerung des Darmes durch Glaubersalz wird er am 7./V. nach 18tägiger Hungerperiode verblutet.

Es wurden gefunden im:

Dickdarminhalt:	20,7 mgr.	Dünndarminhalt:	1,8 mgr.
Dickdarmwand:	1,5 »	Dünndarmwand:	3,5 »

Leber: 84,5 mgr.

Galle: nur qualitativ nachweisbar.

Es sind mithin nach intravenöser Eiseninjection wechselnde, aber fast immer sehr beträchtliche Mengen des Metalls in den Darm ausgeschieden; die Ausscheidung kann bis 70 % des eingeführten Eisens betragen.

Es geht ferner aus den angeführten Zahlenwerthen hervor, dass nach protrahirter Einführung des Eisens in den Kreislauf die grösste Menge des Metalls sich in der Leber wiederfindet. Dass das Lebergewebe Eisen in verschiedenen, complicirten organischen Verbindungen enthält, hat Zaleski[1]) an vollkommen blutfreien Lebern eingehend studirt. Die älteren Leberanalysen sind sämmtlich an dem bluthaltigen Organe vorgenommen; bei dem wechselnden Blutgehalte der Leber, die ja nach Ranke $^1/_4$ der gesammten Blutmenge enthält, kommen sie deshalb für die vorliegende Frage nicht in Betracht. Die von mir untersuchten Lebern waren blutfrei gemacht. Nach möglichst vollständigem Verbluten der Hunde wurde der Bauchraum rasch eröffnet, die Leber herausgenommen und so lange von der Pfortader aus unter hohem Druck Kochsalzlösung durch das Organ geleitet, bis die Flüssigkeit farblos abfloss und die Leber eine ganz gleichmässige, gelbbraune Färbung angenommen hatte. Wie Zaleski angegeben, konnte ich mich durch mikroskopische Untersuchung davon überzeugen, dass es auf diese Weise rasch gelingt, die Leber blutfrei zu machen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. X, S. 453 ff.

Die Leberanalysen sind in folgender Uebersicht zusammengestellt:

Leber.	Gewicht des Hundes in Kgr.	Gewicht der Leber in gr.	Trockensubstanz in gr.	Eisengehalt.	Eisengehalt in % der Trockensubstanz.
1. Normal bei reichlicher Fleischfütterung . .	4,570	245,27	57,15	21,0 mgr.	0,0368
2. Normal bei reichlicher Fleischfütterung . .	6,100	210,02	52,50	19,2 »	0,0366
3. Normal bei reichlicher Fleischfütterung . .	8,290	177,9	41,00	8,3 »	0,0202
4. Bei reichlicher Fleischfütterung und interner Fe-Zufuhr	8,300	189,4	53,82	25,0 »	0,0467
5. Nach 18tägiger Hungerperiode	13,350	346,3	49,82	84,5 »	0,1696
6. do. und Injection von 200 mgr. Fe . . .	17,900	328,14	53,95	230,4 »	0,4271
7. do. und Injection von 145 mgr. Fe . . .	8,500	269,12	40,20	133,1 »	0,3308
8. do. und Injection von 100 mgr. Fe . . .	14,870	360,5	43,40	94,0 »	0,2166
9. Fettfütterung und Injection von 200 mgr. Fe.	12,700	370,0	—	99,9 »	—
10. Fettfütterung und Injection von 200 mgr. Fe.	11,100	522,0	—	189,2 »	—

Schon Zaleski's Analysen von drei Hundelebern zeigen, dass der Eisengehalt nicht unwesentlichen Schwankungen unterliegt. Durch Bunge[1]) ist es ferner festgestellt, dass der Eisengehalt der Leber bei neugeborenen Thieren den bei ausgewachsenen sehr bedeutend übertrifft. Die Zahl der von mir ohne Eisenzufuhr analysirten Lebern (No. 1—5 der Tabelle) ist zwar zu gering, um einen genügenden Einblick in die physiologischen Bedingungen des Eisengehaltes zu

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 13, S. 399.

gestatten; die ausserordentliche Steigerung desselben nach einer 18tägigen Hungerperiode ist indessen ganz unzweideutig. Während ich bei reichlicher Fleischfütterung einen Mittelwerth von 0,035 % erhielt, war der Eisengehalt einer Hungerleber 0,169 %. Der Eisengehalt der Leber scheint somit in erster Linie von dem Ernährungszustande des Thieres abhängig zu sein. Berücksichtigt man, dass in der Leber ohne Zweifel der Zerfall der rothen Blutzellen stattfindet, so erscheint die Anhäufung der Zerfallsproducte an der Stätte des Unterganges begreiflich [1]).

Vergleicht man nun die unter denselben Bedingungen in der Leber nach Injection von Eisen erhaltenen Zahlenwerthe, so ergibt sich eine meist sehr bedeutende Steigerung des Eisengehalts durch Anhäufung von etwa 20—65 % der injicirten Eisenmenge. Durch die verhältnissmässig grossen Gaben, die bei protrahirter Einführung des Metalls in die Vene einverleibt werden konnten, wurde somit ein deutlicher Ausschlag erzielt [2]).

Die Anhäufung des Eisens in der Leber ist in der Gruppe der schweren Metalle keineswegs ohne Analogie. Es sei hier nur an das Verhalten von Blei (Annuchat) [3]), von Quecksilber, welches nächst den Nieren am begierigsten von der Leber aufgenommen wird (E. Ludwig) [4]), sowie an die Ab-

---

[1]) In der Anhäufung des Eisens in der Leber bei einer ungenügenden Fütterung mag auch der sonst ganz unverständliche Verlauf der Stoffwechselversuche von Forster, Dietl und in neuester Zeit Socin seine Erklärung finden. Das vorher angehäufte Eisen kam während der Versuchszeit zur Ausscheidung.

[2]) Schon Zaleski (Archiv f. experim. Path. u. Pharmak., Bd. XXIII, S. 317) hat angegeben, dass sich das Eisen nach intravenöser Injection in der Leber anhäufe. Da er aber viel zu kleine Gaben anwandte, so erhielt er absolute Zahlen, denen man wohl jede Beweiskraft absprechen muss; denn Steigerungen von 0,7 mgr. auf 1,2 mgr. liegen innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler.

[3]) Archiv f. experim. Path. u. Pharmak., Bd. VII, S. 45.

[4]) Wiener klinische Wochenschrift, 1890, No. 28—30.

lagerung von Kupfer (Ellenberger und Hofmeister u. A.)[1]) und Mangan (Cahn)[2]) erinnert.

Wohin gelangt nun das Eisen aus der Leber? Da die Ausscheidung bei subcutaner Einführung des Metalls so ungemein langsam erfolgte, sich aber endlich fast die ganze injicirte Eisenmenge in den Fäces wiederfand, so muss man wohl annehmen, dass das Eisen auf seinem Wege zum Darm in der Leber festgehalten wurde. Auch der Vergleich der in den einzelnen Versuchen nach intravenöser Injection erhaltenen Werthe führt zu der Annahme, dass das Eisen aus der Leber allmälig in den Darm gelangt. Dort, wo sich viel Eisen im Darme wiederfand, wie in Versuch No. III, übersteigt der Eisengehalt der Leber kaum den zu erwartenden Werth; hingegen ist in Versuch No. IV fast die ganze injicirte Menge in der Leber aufgespeichert, während der Darminhalt nur wenig davon enthält.

Es entsteht die Frage, auf welchem Wege das Eisen in den Darm gelangt. Lussana[3]) und in neuerer Zeit Novi[4]) haben sich für einen intermediären Kreislauf (Darm — Leber — Galle — Darm) ausgesprochen, wie ihn Schiff für die Galle annimmt. Novi stützt sich hierbei auf eine Steigerung des Eisengehalts der Galle nach interner Eisenzufuhr; doch erfolgt die Steigerung nur um einen sehr geringen Werth, während eine eben von Dastre[5]) publicirte Reihe von Analysen der an einem Fistelhunde bei constanter Nahrung erhaltenen Galle zeigt, wie sehr schon physiologisch die Eisenmenge schwanken kann. Der Angabe Novi's steht der bekannte Versuch von Hamburger gegenüber. Buchheim und Mayer fanden die Galle nach intravenöser Injection eisenreicher, halten aber diese Differenz für die Erklärung der Eisenausscheidung nicht für ausreichend.

---

[1]) Archiv f. Thierheilkunde, IX. Bd., 1883.

[2]) Archiv f. experim. Path. u. Pharmak., XVIII. Bd., S. 129.

[3]) Cit. nach Scherpf, Zustände u. Wirkungen d. Eisens, Würzburg 1877, S. 122.

[4]) Acad. delle scienze Bologna, Serie IV, t. IX, 1889.

[5]) Archives de Physiologie, Janvier 1891.

Buchheim nahm deshalb an, dass das circulirende Eisen mit den Darmsecreten in den Darminhalt gelangt. Es würde sich dann wie das aus dem Gewebszerfall hervorgegangene Eisen verhalten, welches Bidder und Schmidt als Bestandtheil des intermediären Kreislaufs vom Darm in das Blut und wieder in den Darm zurück verfolgen konnten. In diesen intermediären Kreislauf müsste nach meinen Versuchen aber die Leber eingeschaltet sein. Während der Inanition werden deshalb nicht blos die Fäces abnorm eisenreich, «so dass sie in allen Perioden der Inanitionsdauer geglüht eine eisenoxydreiche, ochergelbe bis ziegelrothe Asche hinterlassen» (Bidder und Schmidt), sondern ebenso die Leber. Die Versuche von Wild machen es wahrscheinlich, dass auch das in der Pflanzennahrung enthaltene Eisen in einem intermediären Kreislauf circulire; Wild[1]) fand bei einer Fütterung mit Heu von bekanntem Eisengehalte, dass die Eisenmenge des Darminhaltes in den oberen Abschnitten abnahm, dann aber eine allmälige Zunahme erfuhr.

Es erscheint sehr wahrscheinlich, dass das injicirte Eisen sich ebenso verhält wie jenes, das dem physiologischen Gewebszerfall entstammt. Wir gelangen somit zu der Anschauung, dass in den Blutstrom eingeführtes Eisen zunächst in der Leber abgelagert und von da allmälig wieder an das Blut abgegeben wird, dass aber die Epithelien des Darmkanals die Fähigkeit besitzen, diese nach und nach in den Kreislauf eintretenden Eisenmengen in sich aufzunehmen und in den Darminhalt auszuscheiden.

Ein Ueberblick über die mitgetheilten Versuche zeigt, in wie weit diese Anschauung durch die analytischen Resultate gestützt wird. Die Anhäufung des Eisens in der Leber und seine Ausscheidung in den Darm sind bereits besprochen. In Bezug auf die Wege der letzteren ist vorerst das negative Resultat bei der Analyse der Galle hervorzuheben; das Eisen war stets nur qualitativ darin nachweisbar. Vergleicht man hingegen den Eisengehalt der Dünndarmwand nach intra-

[1]) Journal f. Landwirthschaft, 22. Jahrg., 1874.

venöser Injection mit dem der normalen und in gleicher Weise blutleer gemachten Darmwand, so ergibt sich eine immerhin deutliche Steigerung; gegenüber 3,5 mgr. in der Darmwand des normalen Hungerthieres (Vers. No. VII) und 3,8 mgr. in der eines gefütterten Hundes, finden sich nach intravenöser Injection 7,7 (Vers. No. III), 8,1 (Vers. No. II), 10,4 (Vers. No. VI) und 9,8 (Vers. No. V) mgr. Eisen. Die absolute Steigerung ist allerdings keine grosse, sie lässt sich aber sehr wohl für die Annahme einer allmäligen Ausscheidung durch die Darmwand verwerthen.

Endlich beweist der Befund von 15,3 mgr. Eisen in 35 cbcm. erbrochenen Mageninhalts, der bei dem Hungerhunde (Vers. No. IV) nach Injection von 145 mgr. Eisen beobachtet wurde, dass auch in den Magen die Ausscheidung erfolgt.

Die Analogie mit der Ausscheidung vieler schwerer Metalle durch die Darmwand ist ferner eine wichtige Stütze der Annahme, dass auch das Eisen sich so verhält. So wurde der exacte Beweis der Ausscheidung durch die Darmwand von Cahn[1]) für das Mangan, von Meyer und Steinfeld[2]) für das Wismuth erbracht.

Mit der Annahme einer sehr allmäligen Ausscheidung sind auch die negativen Resultate von Quincke und Glaevecke nicht unvereinbar. Denn die im Verlaufe des ganzen Darmkanals sehr langsam vor sich gehende Ausscheidung konnte dem Nachweis in der nach Thiry isolirten Darmschlinge, sowie dem mikrochemischen Nachweis im Gewebe leicht entgehen.

Zum Schlusse dieser Besprechung der Versuchsergebnisse mag ein Ueberblick folgen, in wie weit sich die Resultate zur Beurtheilung der im Vordergrunde des Interesses stehenden Frage nach der Resorbirbarkeit der Eisensalze verwerthen lassen. Der Vergleich der Einnahmen und Ausgaben des Eisens bei interner Anwendung hat in den Versuchen von Hamburger, und vorher schon in denen Kletzinky's[3]), den

---

[1]) A. a. O.

[2]) Archiv f. experim. Path. u. Pharmok., Bd. XX, S. 40.

[3]) Zeitschr. d. k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien, 1854, S. 281.

ersten Grund dazu gegeben, die Resorbirbarkeit zu bezweifeln; wenn aber die Darmschleimhaut als das Ausscheidungsorgan der etwa auch vom Darmkanal aufgenommenen Eisensalze fungirt, so kann durch diesen Vergleich nicht entschieden werden, ob das ausgeführte Eisen unresorbirt geblieben oder in das Blut aufgenommen und wieder ausgeschieden sei. Ein zweiter sehr gewichtiger Einwand gegen die Resorbirbarkeit der Eisensalze ist die seit Meyer und Williams bekannte Thatsache, dass das früher für völlig unschädlich gehaltene Eisen in das Blut eingeführt zu den heftigsten Giften gehört. Da nach interner Eisenzufuhr niemals Vergiftungserscheinungen beobachtet sind, so führten diese Resultate zu der Annahme, dass die scheinbare Unschädlichkeit der Eisensalze darin begründet ist, dass sie von der intacten Magen- und Darmschleimhaut nicht zur Resorption gelangen. Aber auch Bunge lässt den Einwand offen, dass das eingeführte Eisen beim Durchgang durch die Leber etwa in «eine organische Verbindung umgewandelt würde, welche unschädlich ist und nicht durch die Nieren zur Ausscheidung gelangt».

Da nun die angeführten Versuche zeigen, dass die Leber die Fähigkeit besitzt, im Blute circulirendes Eisen festzuhalten, so muss die Wirkung des eingeführten Giftes auf das Nervensystem vor Allem davon abhängen, ob die Art der Einführung die Leber in den Stand setzt, das Gift dem Kreislauf und damit der Allgemeinwirkung zu entziehen. Bei Einführung in den grossen Kreislauf kann das Gift nur nach und nach in die Leber eintreten, von der Pfortader aus hingegen in seiner ganzen Menge. Mithin kann die Ungiftigkeit des intern eingeführten Eisens nicht gegen die Resorbirbarkeit desselben angeführt werden; denn kleine resorbirte Mengen würden selbstverständlich nirgends so günstige Bedingungen der unschädlichen Aufnahme finden, als vom Darm aus, da hier die Leber das eintretende Eisen sofort an sich reissen und allmälig zur weiteren Ausscheidung in den Darm abgeben könnte.

Ueber die Bildung von Milchsäure und Glykose in den Organen bei gestörter Circulation und bei der Blausäurevergiftung.

Von

Hermann Zillessen, prakt. Arzt.

(Der Redaction zugegangen am 10. März 1891.)

Ueber die Spaltungen, welche die Kohlehydrate und Fette im thierischen Organismus erleiden, über die Bildung und das Schicksal der dadurch entstehenden stickstofffreien Spaltungs- und Oxydationsproducte des Stoffwechsels ist bisher noch wenig Sicheres und Bestimmtes bekannt geworden. Nur Hypothesen sind über die Bildung dieser intermediären Stoffwechselproducte, der Milchsäure, Glykuronsäure und flüchtigen Fettsäuren etc., aufgestellt worden. Allerdings behauptete Liebig[1]) auf Grund seiner Analysen, bei denen er im normalen Harn, selbst nicht nach dem Genuss grosser Mengen milchsauren Natrons, nie Milchsäure nachweisen konnte, «dass die Milchsäure im Organismus zur Unterhaltung des Respirationsprocesses verwendet wird und die Rolle, welche Zucker, Amylon, überhaupt alle Stoffe spielen, welche in Berührung mit Thiersubstanzen in Milchsäure überzugehen vermögen, hört jetzt auf, eine Hypothese zu sein: sie verwandeln sich im Blute in milchsaure Salze, die ebenso schnell wieder zerstört werden, wie sie sich bilden, und die sich nur da anhäufen, wo die Menge des Sauerstoffs kleiner wird, oder wo sich seiner Wirkung eine andere Thätigkeit entgegensetzt». Diese Ansicht Liebig's fand jedoch wenig Anklang und wurde bis in die neueste Zeit als eine ganz hypothetische

[1]) Ann. Chem. Pharm., Bd. 62, S. 338, 1847.

angesehen, wie dies besonders von H. Meyer[1]) ausgesprochen ist, «da wir weder über den Ort, noch über die Art von der Zerstörung der in's Blut aufgenommenen Kohlehydrate sicher unterrichtet sind».

Ganz kürzlich ist nun unter Herrn Prof. Hoppe-Seyler's Leitung von Araki[2]) festgestellt worden, dass in der That, in Folge von O-Mangel in der Athmungsluft, bei gesunden Hunden und Kaninchen in dem Urin ausser coagulirbarem Eiweiss, auch Milchsäure und Zucker in sicher zu bestimmenden Mengen auftreten. Während die Ausscheidung des Eiweisses bei diesen Versuchen als eine durch den O-Mangel hervorgerufene Abnormität in der Function der Nieren angesehen werden muss, so war in Betreff der Milchsäure und des Zuckers die Frage aufzuwerfen, in welchen Organen des thierischen Organismus diese abnormen Ausscheidungsproducte ihre Entstehung finden.

Es ist schon lange bekannt, dass beim Tode der Organe Milchsäure und Zucker im Muskel und in der Leber gebildet werden; wahrscheinlich gilt dasselbe auch von der Niere und der grauen Substanz des Gehirns, aus welch' letzterer Gscheidlen Milchsäure zuerst dargestellt hat.

Durch die angeführten Untersuchungen Araki's war die Annahme sehr nahe gelegt, dass ebenso wie beim Tode, so auch während des Lebens in den Organen die Bildung von Glykose und Milchsäure stattfinde, wenn denselben auf die eine oder andere Weise der O entzogen wird, welcher normaler Weise zur Umwandlung jener Stoffe zu den letzten Oxydationsproducten CO_2 und H_2O erforderlich ist. Wahrscheinlich werden unter denselben Bedingungen ausser Glykose und Milchsäure noch andere Spaltungsproducte in den Organen entstehen können. So ist es möglich, dass von Eiweissstoffen stickstoffhaltige Umwandlungsproducte gebildet werden, und würde es sich da zunächst darum handeln,

[1]) Studien über die Alkalescenz des Blutes, Archiv f. experim. Path. u. Pharmak., XVII. Bd., S. 304, XI.

[2]) Ueber die Bildung von Milchsäure u. Glykose im Organismus bei Sauerstoffmangel, Inaug.-Diss., Strassburg 1891.

Pepton, Leucin und Tyrosin im Harne solcher Thiere, welche längere Zeit an O-Mangel gelitten haben, nachzuweisen.

Von Fränkel[1]) ist bereits festgestellt worden, das bei Hindernissen in den Athmungsorganen (zu enge Trachealfistel bei Hunden) in der Zeiteinheit mehr Harnstoff gebildet wird, als dies bei genügendem O-Zutritt der Fall ist. Nach den Versuchen Araki's muss jedoch die Zersetzung der stickstoffhaltigen Substanzen noch grösser sein, als es nach der Fränkel'schen Angabe erscheint, weil die bei O-Mangel ausgeschiedene Milchsäure mit NH_3 gesättigt in den Harn übergeht und demnach neben dem vermehrten Harnstoff noch weitere Stickstoffmengen zur Ausscheidung gelangen.

Von allen diesen Fragen suchte ich auf Anregung Herrn Prof. Hoppe-Seyler's zunächst über die eine Aufschluss zu erlangen, ob es möglich ist, durch künstlich hervorgerufenen O-Mangel in den Organen des lebenden normalen Thieres die Bildung von Milchsäure und Zucker nachzuweisen. Um O-Mangel in den Organen hervorrufen zu können, müssen denselben die zuführenden Arterien unterbunden werden. Während sich nun für die Absperrung der Blutzufuhr zum Gehirn und der Niere schwierigere Momente geltend machen, erscheint dies bei den Muskeln und der Leber verhältnissmässig leicht ausführbar zu sein. Es wurden daher die zur Beantwortung der aufgeworfenen Frage nöthigen Versuche zuerst bei den Muskeln und der Leber vorgenommen.

I. Versuche am Muskel.

Der bei diesen Versuchen am Muskel leitende Gedanke war folgender: Um O-Mangel in einem bestimmten Muskelgebiet — am geeignetsten erschien dazu die untere Extremität — hervorzurufen, wird die zuführende Arterie unterbunden. Nach einiger Zeit wird diese Unterbindung wieder gelöst, das Blut strömt jetzt durch die bis dahin unter O-Mangel stehenden Muskeln, schwemmt die in denselben währenddessen ent-

[1]) Fränkel, Centralbl. für die med. Wiss., 1875, No. 44; Archiv f. path. Anat., Bd. LXII, S. 1, Bd. LXXI, S. 117.

standenen Stoffe aus, wird nun aus der entsprechenden Vene aufgefangen und auf ihren Gehalt an Milchsäure und Zucker geprüft. Zu gleicher Zeit wird auch der seit der Unterbindung der Arterie gelassene Urin auf etwa in ihn übergegangene Milchsäure und Zucker untersucht. Die Methode der Milchsäure-Untersuchung richtete sich nach dem Drechsel-Werther'schen[1]) Verfahren, welches sich bei den Untersuchungen Araki's als das genaueste erwiesen hatte. Der Nachweis von Zucker geschah durch die Trommer'sche, die Phenylhydrazin- und Gährungsprobe, sowie quantitativ durch den Polarisationsapparat. Eiweiss wurde durch Kochen und nachherigen Zusatz von Essigsäure coagulirt.

Als Versuchsthiere wurden Hunde benutzt und zwar wurde die Operation in den ersten beiden Fällen ohne Chloroformnarkose vorgenommen, weil durch die Untersuchungen Otto's[2]) nachgewiesen ist, dass der Zuckergehalt des Blutes bei der Chloroformnarkose deutlich vermehrt ist.

Bei den ersten beiden Versuchen wurde die Arteria femoralis hoch oben direct nach ihrem Durchtritt unter dem Poupart'schen Bande unterbunden, um dadurch vor der Herstellung eines Collateralkreislaufes möglichst sicher zu sein. Die Unterbindung der kurz unterhalb der Unterbindungsstelle abgehenden kleinen Arteriae epigastricae, pudendae externae und circumflexae ilei wurde unterlassen, weil für die verhältnissmässig kurze Zeit des Arterienverschlusses die Entstehung eines ausgebildeten Collateralkreislaufes durch diese kleinen Zweige nicht erwartet wurde.

Nachdem die Ligatur um die Arterie auf einem kleinen dünnen Stäbchen fest geschlossen war, wurde um die Schenkelvene eine lose Schleife herumgelegt, diese in die Tiefe versenkt und nun die äussere Hautwunde geschlossen. Diese Vorsicht erwies sich als sehr zweckmässig, da bei der nach ca. 6 Stunden erfolgten Lösung der Ligatur die Umgebung der Unterbindungsstelle dermassen geschwollen und infiltrirt

---

[1]) Pflüger's Archiv f. die gesammte Phys., Bd. 46, S. 68, 1889.

[2]) Archiv f. d. gesammte Phys., Bd. XXXV, S. 489.

war, dass jetzt ein Auffinden der Vene ohne Leitung der früher herumgelegten Schleife erheblich schwieriger gewesen wäre. So wurde die Vene leicht hervorgezogen und aus ihr ein sofort beim Ausfliessen gerinnendes, stark venös gefärbtes Blut aufgefangen. Vor der Lösung der Ligatur hatte in beiden Fällen eine mechanische Reizung der Beinmuskeln noch deutliche Zuckungen zur Folge, so dass trotz der hohen Unterbindungsstelle eine völlige Absperrung der Blutzufuhr jedenfalls nicht erzielt war, sondern ein geringer Collateralkreislauf bestanden hatte.

Der von beiden Hunden nach der Unterbindung der Arterie bis zum nächsten Morgen secernirte Urin wurde ebenso wie das aufgefangene Blut auf Milchsäure und Zucker untersucht.

Die bei den ersten beiden Versuchen erhaltenen Resultate waren folgende:

	Blutmenge.	Milchsaures Zink.	Zucker.
1. Hund	40 cbcm.	0,079 %	0,2 %
2. Hund	115 cbcm.	0,055 %	0,15 %

	Urinmenge.	Milchsaures Zink.	Zucker.	Eiweiss.	Reaction.
1. Hund	204 cbcm.	Spur	—	—	sauer
2. Hund	275 cbcm.	0,004 % ?	—	—	do.

Da die aufgefundenen Mengen von milchsaurem Zink, welche übrigens mit Eisenchlorid deutlich die Uffelmann-sche[1]) Reaction ergaben, zu gering waren, als dass sich damit eine Analyse hätte ausführen lassen, so wurde zu einem radikaleren Operationsverfahren geschritten, welches die Mängel der beiden früheren Versuche vermeiden sollte. Zu diesem Zwecke wurden, um die Bildung eines Collateralkreislaufes zu vermeiden und dabei auch ein grösseres Blutquantum zu erhalten, an zwei gut genährten Hunden nach Eröffnung der

[1]) Ueber die Methode des Nachweises freier Säuren im Mageninhalt, Archiv f. klin. Med., Bd. 8.

Bauchhöhle mit einem Schnitt, der vom Nabel bis gegen die Symphyse geführt war, beide Aerteriae ilacae unterbunden, die Unterbindungsfäden in die Bauchhöhle versenkt und letztere dann mit zahlreichen Nähten gut verschlossen. Die äussere Wunde wurde mit Jodoformcollodium bestrichen.

Die Hunde wurden bei dieser Operation, ebenso wie nachher bei der Entnahme des Blutes, tief chloroformirt. Bei dem ersten der beiden Hunde wurde nach Verlauf von $3^1/_2$ Stunden, obwohl die Beinmuskeln auf mechanische Reizung noch mit schwachen Zuckungen antworteten, nach Oeffnung der Naht die Vena cava inferior unterbunden, darauf die Ligatur der beiden Arteriae iliacae gelöst und aus der Vene 231 cbcm. dunkel venöses, sehr leicht gerinnendes Blut aufgefangen. Als kein Blut mehr aus der Vene abfloss, wurde die Aorta abdominalis geöffnet und aus ihr bis zum Verblutungstode noch 105 cbcm. arterielles Blut gewonnen. Der seit der Unterbindung der Arteriae ilacae gelassene Urin wurde gleichfalls gesammelt und untersucht.

Bei dem zweiten Hunde wurde nach Unterbindung der Arteriae iliacae bis zum Auffangen des Blutes aus der Vene 6 Stunden gewartet. Die Beinmuskeln reagirten nach dieser Zeit nicht mehr auf mechanische Reizung. Es wurde nun hier ebenso wie bei dem ersten Hunde verfahren und das gewonnene Blut wie Urin auf Milchsäure und Zucker verarbeitet. Das Ergebniss dieser beiden Versuche enthält die folgende kleine Tabelle.

	Blutmenge aus der Vene.	Blutmenge aus der Arterie.	Milchsaures Zink.		Zucker.	
			Vene.	Arterie.	Vene.	Arterie.
1. Hund .	231 cbcm.	105 cbcm.	0,086 %	0,047 %	0,15 %	0,1 %
2. Hund .	108 cbcm.	114 cbcm.	0,126 %	0,08 %	0,277 %	0,175 %

	Urinmenge.	Reaction.	Milchsaures Zink.	Zucker.	Eiweiss.
1. Hund .	72 cbcm.	sauer	0,051 %	—	geringe
2. Hund .	40 cbcm.	sauer	0,098 %	—	Mengen.

Der Krystallwassergehalt des milchsauren Zinkes aus dem venösen Blute des zweiten Hundes betrug 11,6 %.

0,104 wasserfreies Zinklactat ergaben bei der Zinkbestimmung 0,0418 ZnS = 0,028 Zn.

Für $(C_3H_5O_3)_2$ Zn berechnet 26,75 % Zn, gefunden wurde für 0,104 $(C_3H_5O_3)_2$ Zn 26,92 % Zn.

Die angestellte angestellte kleine Versuchsreihe, welche im Wesentlichen übereinstimmende Resultate ergeben hat und deshalb auch nicht durch weitere Versuche vergrössert wurde, zeigt, dass, entsprechend der vorher gestellten Annahme, *im O-armen Muskel mehr Milchsäure und Zucker zur Ausscheidung gelangt, als dies bei normaler O-Zufuhr der Fall ist, und zwar richtet sich die Mehrausscheidung dieser Spaltungsproducte nach dem Grade der Absperrung der arteriellen Zufuhr.* Dementsprechend war bei Versuch 4, wo die Muskeln bei Entnahme des Blutes auf mechanische Reizung nicht mehr antworteten, die Menge der ausgeschiedenen Milchsäure resp. Zucker am grössten; am kleinsten war sie bei den ersten beiden Versuchen, bei welchen der Collateralkreislauf am wenigsten behindert war. Das Auftreten der Milchsäure im Urin bei den beiden letzten Versuchen ist sehr erklärlich, da hier ja die ganze untere Körperhälfte durch die Unterbindung der beiden Iliacae in einen Zustand von O-Mangel versetzt war. Zucker wurde in keinem Falle im Urin nachgewiesen, was bei dem nur wenig vermehrten Gehalt des Blutes an reducirender Substanz nicht Wunder nehmen kann.

II. Versuche an der Leber.

Um in der Leber O-Mangel hervorzurufen, wurde die Arteria hepatica bei Kaninchen und Hunden unterbunden. Allerdings musste man hierbei die Befürchtung hegen, dass einmal trotz der Unterbindung der Arterie durch das Blut der Pfortader noch hinreichend O der Leber zugeführt werde, und dass zweitens auch hier wieder durch die Entstehung eines Collateralkreislaufes die Hauptbedingung zum Gelingen

des Versuches, die Absperrung der O-Zufuhr, vereitelt werden könnte. Die Entstehung eines Collateralkreislaufes wäre wohl nach dem Vorgehen von Slosse[1]), welcher die Arteria coeliaca und die Arteria mesentericae zur Bestimmung der Athemgrösse des Darms und seiner Drüsen unterbunden hat, dadurch zu vermeiden gewesen, dass man die Arteria coeliaca direct bei ihrem Austritt aus der Aorta unterbunden hätte. Es wurde jedoch auf dieses Verfahren verzichtet und nur die Arteria hepatica selbst unterbunden, um ein möglichst reines Resultat über das Verhalten der Leber allein im Zustande des O-Mangels zu erhalten, während im andern Falle auch andere grosse Theile der Baucheingeweide unter dem Einflusse des O-Mangels sich befunden hätten und ausserdem die Thiere bei jener Operation schwerlich am Leben geblieben wären. Die Operation wurde an 3 gut genährten Kaninchen und 3 Hunden nach je eintägigem Hungern in tiefer Chloroformnarkose ausgeführt.

Es wurde in der Linea alba vom Processus ensiformis bis herab zum Nabel die Bauchhöhle eröffnet, darauf das Netz bei Seite geschoben, das Duodenum nach links herüber gelegt und nun von der Leberpforte aus sich orientirend die Arteria hepatica aufgesucht und unterbunden. Bei Kaninchen verlief die Arterie direct auf der Vena portarum und theilte sich auf ihr bereits in mehrere Zweige; bei Hunden wurde sie neben und oberhalb des Ductus cysticus aufgefunden, beide Male in das zähe und sehr schwer von ihr zu isolirende Ligamentum hepatoduodenale fest eingeschlossen.

Nach der Unterbindung der Arterie wurden die Gedärme, welche bei Kaninchen sich stets aus der Bauchwunde hervordrängten — bei Hunden war dies nicht der Fall —, zurückgedrängt, die Bauchwände durch zahlreiche Nähte gut geschlossen und mit Jodoformcollodium bestrichen, da sich das Anlegen eines Verbandes als zwecklos erwiesen hatte. Die Thiere wurden darauf in warmem Zimmer in einen Kasten gesetzt, welcher das getrennte Auffangen des Urins ermög-

---

[1]) A. Slosse, Die Athemgrösse des Darms und seiner Drüsen, Archiv f. Anat. u. Physiol., Phys. Abth., Supplementband 1890.

lichte, der ja bei dieser Versuchsreihe allein auf Milchsäure und Zucker untersucht werden konnte. Die 3 operirten Kaninchen gingen nach 2—3 Tagen an Peritonitis zu Grunde, während die Hunde die Operation alle sehr gut überstanden und ausser einem, der einige Tage an Durchfall litt, durchaus kein regelwidriges Verhalten zeigten. Die äussere Bauchwunde, welche öfters gereinigt und frisch mit Jodoformcollodium bestrichen wurde, heilte unter geringer Eiterung in ca. 14 Tagen mit guter fester Narbenbildung. Die folgenden Tabellen zeigen die Untersuchungsergebnisse der aufgefangenen Urinmengen.

	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Milchs. Zink.	Zucker.
1. Kaninchen, operirt am 5. XII. 90 + am 7. XII.	35 cbcm. am 6. XII.	alkalisch	viel	0,085 %	2 %
2. Kaninchen, operirt am 20. XII. 90 + am 23. XII.	85 cbcm. am 22. XII.	sauer	viel	0,067 %	—
	30 cbcm. am 23. XII.	sauer	viel	0,063 %	—
3. Kaninchen, operirt am 20. XII. 90 + am 24. XII.	70 cbcm. am 22. XII.	neutral	viel	0,032 %	—
	32 cbcm am 23. XII.	sauer	viel	0,052 %	—
1. Hund, operirt am 13. XII. 90. Section am 14. I. 91. Vom 17.-20. XII. Urin durch Koth verunreinigt.	330 cbcm. am 14. XII.	sauer	—	0,027 %	—
	290 cbcm. am 15. XII.	sauer	—	0,018 %	—
	120 cbcm. am 16. XII.	sauer	—	0,019 %	—
	90 cbcm. am 21. XII.	sauer	—	0,004 %	—
2. Hund, operirt am 22. XII. 90. Section am 24. I. 91.	150 cbcm. am 23. XII.	sauer	—	0,032 %	—
	356 cbcm. am 24. XII.	sauer	—	0,019 %	—
	600 cbcm. am 25.-26. XII.	sauer	—	0,015 %	—
	am 27.-30. XII.	sauer	—	0,013 %	—

Fortsetzung der Tabelle auf Seite 395.

	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Milchs. Zink.	Zucker.
3. Hund, operirt am 8. I. 91. Section am 6. II. 91.	145 cbcm. am 9. I.	sauer	—	0,054 %	—
	174 cbcm. am 10. I.	sauer	—	0,049 %	—
	90 cbcm. am 11. I.	sauer	—	0,047 %	—
	76 cbcm. am 12. I.	sauer	—	0,039 %	—
	509 cbcm. am 12.—15. I.	sauer	—	0,041 %	—
	188 cbcm. am 20. I.	sauer	—	Spur?	—

Der Krystallwassergehalt von 0,1258 $(C_3H_5O_3)_2$ Zn, welches aus dem Urin vom 9.—11. I. 91 des dritten Hundes gewonnen war, betrug 11,4 %.

Aus 0,113 wasserfreiem Zinklactat wurde 0,0463 ZnS = 0,031 Zn dargestellt = 27,4 % Zn; dagegen berechnet 26,75 % Zn.

Aus obiger Tabelle folgt, dass **auch in der Leber bei O-Mangel Milchsäure gebildet wird**, oder vielmehr die sauerstoffarme Leber vermag nicht, wie dies nach Minkowsky's[1]) Versuchen bei Gänsen sonst der Fall ist, die Milchsäure zu ihren normalen Ausscheidungsproducten CO_2 und H_2O zu oxydiren, sondern lässt einen Theil der Milchsäure unzersetzt in das Blut übergehen. Zu gleicher Zeit ist aus der Tabelle ersichtlich, dass der Milchsäuregehalt des Urins von der Operation an stetig abnimmt, dass also der Leber wahrscheinlich auf collateralen Bahnen allmälig wieder mehr O zugeführt worden ist. Und in der That haben die Sectionen der 3 Hunde ergeben, dass sich auch hier ein deutlicher Collateralkreislauf ausgebildet hatte. Es zeigte sich nämlich in allen Fällen, dass der nach der Leber hinführende Hauptstamm der Arterie bei der Section verödet war und in seinem Lumen nur ganz wenig schleimig gelbliche Flüssigkeit

[1]) Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmak., Bd. XXI, S. 71 u. 72.

enthielt, dass jedoch von der Arteria gastroduodenalis und der coronaria ventriculi dextra eine Menge kleiner Aestchen nach der Leber hinzogen. Es stimmte also dieser Befund völlig mit der Folgerung überein, welche man aus dem Resultate der Urinuntersuchungen zu ziehen berechtigt war.

Zucker konnte nur in einem einzigen Falle nachgewiesen werden; warum er bei diesem Kaninchen auftrat, darüber vermag ich nicht zu entscheiden, da leider eine Untersuchung des Urins vor der Operation unterblieben war.

Wenn es auch nach der geringen Anzahl der oben beschriebenen Versuche etwas gewagt erscheint, daraus allgemeine Schlüsse zu ziehen, so ist es doch nach den Versuchen Araki's und mir sehr wahrscheinlich, dass der bei vielen Krankheiten, welche einen O-Mangel der Organe zur Folge haben, gefundene verminderte Alkalescenzgehalt des Blutes auf der Bildung von Milchsäure und einer dadurch bedingten Verarmung des Blutes an basischen Salzen beruht. H. Meyer[1]) und v. Jaksch[2]) haben diese Vermuthung bereits ausgesprochen, jedoch bisher keine Versuche nach dieser Richtung hin angestellt. Araki hat nun in seiner oben citirten Arbeit bewiesen, dass nicht nur beim Athmen im O-armen Raume Milchsäure und Zucker im Urin auftritt, sondern dass auch bei der CO-Vergiftung, wie nach der Strychninvergiftung und nach epileptischen Anfällen derselbe Befund im Harne gemacht wird. Diese Thatsachen legen die Annahme sehr nahe, dass auch die Verminderung der Blutalkalescenz im Fieber, welche bereits von Senator[3]), C. A. Ewald[4]) und Andern nachgewiesen ist, auf der durch den gleichzeitigen O-Mangel bedingten Bildung von Milchsäure im Blut beruhen wird. In gleicher Weise würde sich dann auch die Verminderung der Blutalkalescenz bei den anderen Krankheiten erklären, bei denen sie von v. Jaksch

[1]) A. a. O.

[2]) Ueber die Alkalescenz des Blutes bei Krankheiten, Zeitschrift für klin. Medic., Bd. XIII.

[3]) Ueber den fieberhaften Process und seine Behandlung.

[4]) Archiv von Reichert und du Bois-Reymond, 1879.

nachgewiesen worden ist, wie bei der Urämie, schwerer Pneumonie, Erkrankungen der Leber, welche zu einer Destruction des Gewebes führen, Leukämie, perniciöser Anämie etc.

III. Versuche bei der Blausäurevergiftung.

Um über die Berechtigung dieser Annahme Aufschluss zu gewinnen, unternahm ich es, auf Anregung Herrn Prof. Hoppe-Seyler's, wie Araki es für die CO-Vergiftung bereits nachgewiesen hatte, die von Geppert[1]) ausgesprochene Behauptung, «dass die CO_2-Menge des Blutes unter dem Einfluss der Blausäurevergiftung sehr erheblich sinkt und dass das Sinken der Gewebsalkalescenz eine specifische Wirkung der Blausäure sei», daraufhin zu prüfen, ob die Verminderung der Blutalkalescenz nicht durch das vermehrte Auftreten von Milchsäure veranlasst sein könne. Vermuthungsweise hat Geppert diese Möglichkeit auch ausgesprochen und sie dabei als abhängig von der Minderaufnahme des O gedacht, ohne jedoch darüber Versuche zu veröffentlichen.

Um die Minderaufnahme von O in den anzustellenden Thierexperimenten in möglichster Ausdehnung zu erreichen, war es nöthig, die Thiere so stark zu vergiften, dass das zweite und dritte Stadium der Blausäurevergiftung, welche sich über die Zeit der Krämpfe, höchsten Athemnoth und der Lähmung erstrecken, recht lange unterhalten wurde. Die Menge des zur Erreichung dieses Zweckes anzuwendenden Giftes wurde durch einige Vorversuche festgestellt. Die Thiere wurden dann mehrere Male am Tage vergiftet und schliesslich bei der letzten Vergiftung getödtet, resp. die letzte Dosis so hoch genommen, dass sie daran zu Grunde gehen mussten. Es wurde nun aus dem Herzen und den grossen Gefässen das stets sehr dunkel venös gefärbte Blut aufgefangen und dieses, sowie der während der Vergiftungsdauer secernirte Urin auf Milchsäure und Glykose untersucht.

Die Methode der Untersuchung war dieselbe, wie sie oben angewandt worden war.

---

[1]) Ueber das Wesen der Blausäurevergiftung, 1889.

Als Versuchsthiere wurden hauptsächlich Kaninchen benutzt, da sich bei diesen der während der Vergiftung gelassene Urin leicht rein auffangen liess, während dies bei Hunden wegen des Erbrechens und starken Speichelflusses nicht möglich war, wenn man nicht den Hund nach jeder Vergiftung katheterisiren wollte.

Zur Vergiftung wurde eine 0,64 % resp. 3,2 % Blausäurelösung benutzt und wurde dieselbe theils in den Mund der Thiere, theils unter die Haut gebracht. Hierbei schien bei Anwendung der verdünnten Blausäurelösung die Wirkung vom Munde aus schneller einzutreten als bei der subcutanen Injection, während die concentrirtere Lösung keinen Unterschied in der Schnelligkeit Wirkung bei der einen oder andern Anwendungsweise erkennen liess. Auf eine Anwendung von Cyankaliumlösung wurde verzichtet, da dieselbe sich bekanntermassen sehr bald zersetzt und man also dabei stets zum Anfertigen erneuter Lösungen gezwungen ist. Eine Gewöhnung an die Giftdosis, wie sie Geppert bei Einspritzungen direct in's Blut beobachtet zu haben glaubt, haben wir nicht bemerkt, vielmehr schien bei einer erneuten Vergiftung mit ganz gleicher Dosis nach völligem Ablauf der ersten Vergiftungserscheinungen die dann eintretende Vergiftung viel intensiver zu sein als die abgelaufene.

Die in der Folge beschriebenen 6 ersten Versuche sind an Kaninchen, die beiden letzten an Hunden angestellt.

1. Versuch.

4, 5,7, 6,10 je 10 Tropfen der 0,64 % Blausäurelösung in den Mund gebracht. Nach den beiden ersten Gaben Dyspnöe, Zuckungen, Krämpfe, Lähmung; das Thier erholt sich ziemlich langsam. Nach der dritten Gabe sehr schwere Vergiftung, welche um 7,13 den Tod zur Folge hat.

21 cbcm. Urin, alkalisch, ohne Eiweiss- oder Zuckergehalt, enthält 0,1217 % milchsaures Zink.

Krystallwassergehalt 12,7 %.

32 cbcm. Blut ergaben 0,0905 % milchsaures Zink und 0,24 % Zucker.

2. Versuch.

0,64 % Blausäurelösung.

3,45 Uhr 8 Tropfen in den Mund gebracht; schwache Vergiftung.

4,22 Uhr 9 Tropfen in den Mund gebracht; starke Vergiftung.

5,35 Uhr 7 Tropfen in den Mund gebracht; starke Vergiftung.

Am nächsten Morgen 64 cbcm. Urin ohne Eiweiss und Zucker. 0,065 % milchsaures Zink.

10¼ 8 Tropfen subcutan; leichte Vergiftung.

11,7 7 Tropfen subcutan; leichte Vergiftung.

12,15 7 Tropfen subcutan; leichte Vergiftung.

3,30 7 Trofpen subcutan; Dyspnöe, Krämpfe.

4,15 8 Tropfen in den Mund; schwere Vergiftung.

5,22 8 Tropfen in den Mund; schwere Vergiftung.

Das Thier wurde im Zustand der höchsten Athemnoth getödtet.

29 cbcm. Urin; alkalisch; kein Eiweiss; kein Zucker. 0,0947 % milchsaures Zink.

46 cbcm. Blut ergaben 0,1315 % milchsaures Zink und 0,17 % Zucker.

3. Versuch.

0,64 % Blausäurelösung.

10,15 7 Tropfen subcutan; Dyspnöe, keine Krämpfe.

11,07 7 Tropfen subcutan; schwache Krämpfe.

11,45 7 Tropfen subcutan; starke Krämpfe, Lähmung.

4,20 8 Tropfen subcutan; schwache Krämpfe.

5,12 8 Tropfen subcutan; schwache Krämpfe.

5,50 9 Tropfen subcutan; sehr schwere Vergiftung.

6,25 Tod.

Sofort nach dem Tode wurde Blut und Urin gewonnen.

61 cbcm. Urin; alkalisch; geringe Mengen Eiweiss; kein Zucker; 0,2146 % milchsaures Zink.

20 cbcm. Blut, 0,1999 % milchsaures Zink und 0,16 % Zucker.

4. Versuch.

0,64 % Blausäurelösung.
3,52 9 Tropfen subcutan; Krämpfe, Lähmung.
4,34 10 Tropfen subcutan; sehr schwere Vergiftung.
6,12 Tod.

27 cbcm. Urin; alkalisch; kein Eiweiss; kein Zucker; Spur milchsaures Zink.

56 cbcm. Blut; 0,3087 % milchsaures Zink; 0,14 % Zucker.

5. Versuch.

0,64 % Blausäurelösung.
11,10 9 Tropfen subcutan; starke Vergiftung.
12,32 8 Tropfen in den Mund; starke Vergiftung.
3,44 8 Tropfen subcutan; Krämpfe, Lähmung.
5,16 10 Tropfen subcutan; sehr schwere Vergiftung.
6,43 Tod.

83 cbcm. Urin; alkalisch; Spur Eiweiss; kein Zucker; 0,1156 % milchsaures Zink.

60 cbcm. Blut; 0,1293 % milchsaures Zink; 0,4 % Zucker.

Der Krystallwassergehalt von 0,1988 $(C_3H_5O_3)_2Zn$ ergab 11,3 %.

Aus 0,1279 wasserfreiem $(C_3H_5O_3)_2Zn$ wurde 0,0507 ZnS = 0,034 Zn dargestellt.

Für Zinklactat berechnet 26,75 % Zn, für 0,127 des Zinksalzes fand man 26,61 % Zn.

6. Versuch.

0,64 % Blausäurelösung.
11,4 9 Tropfen subcutan; schwere Vergiftung.
3,32 8 Tropfen in den Mund; schwere Vergiftung.
5,13 9 Tropfen in den Mund; schwere Vergiftung.
6,15 Tod.

38 cbcm. Urin; alkalisch; viel Eiweiss; kein Zucker; 0,1495 % milchsaures Zink.

45 cbcm. Blut; 0,2481 % milchsaures Zink; 0,21 % Zucker.

7. Versuch.

3,2 % Blausäurelösung.

9,43 5 Tropfen subcutan; geringe Vergiftung.

10,24 6 Tropfen subcutan; geringe Vergiftung.

3,47 12 Tropfen subcutan; nach 2 Minuten Tod.

65 cbcm. Urin; sauer; kein Eiweiss; Spur Zucker; milchsaures Zink nicht vorhanden.

364 cbcm. Blut; 0,142 % milchs. Zink; 0,125 % Zucker.

Der Krystallwassergehalt von 0,2572 $(C_3H_5O_3)_2Zn$ wurde auf 12,52 % bestimmt.

Aus 0,225 wasserfreiem $(C_3H_5O_3)_2Zn$ wurde 0,0922 ZnS = 0,0618 Zn dargestellt.

Für Zinklactat berechnet 26,75 % Zn; für 0,225 des Zinksalzes wurde 27,1 % Zn erhalten.

8. Versuch.

3,2 % Blausäurelösung.

11,46 6 Tropfen in den Mund; leichte Krämpfe.

12,31 7 Tropfen subcutan; leichte Krämpfe.

4,27 7 Tropfen in den Mund; leichte Krämpfe.

5,13 10 Tropfen subcutan; sehr schwere Vergiftung.

5,49 Tod.

15 cbcm. Urin; sauer; kein Eiweiss; Spur Zucker; Spur milchsaures Zink.

275 cbcm. Blut; 0,496 % milchsaures Zink und 0,18 % Zucker.

Aus den angestellten Versuchen ergiebt sich, dass bei der Blausäurevergiftung die Milchsäure im Blute bedeutend vermehrt ist, und dass also der verminderte Alkalescenzgehalt des Blutes durch das in Folge des O-Mangels erfolgte Auftreten der Milchsäure bedingt sein wird und nicht auf einer specifischen Wirkung der Blausäure beruht. Weiter folgt, dass auch der Zuckergehalt des Blutes in Folge der Blausäurevergiftung steigt, jedoch nicht in dem Masse, dass Glykose in den Urin übertreten könnte. In den letzten beiden Versuchen war zwar eine deutliche Reduction des Kupfer-

oxyduls in alkalischer Lösung zu sehen, doch war eine quantitative Bestimmung der Glykose im Urin nicht möglich.

Noch eine Beobachtung habe ich zu erwähnen, welche bei Gelegenheit obiger Versuche gemacht wurde. Durch Claude Bernard[1]) und W. Preyer[2]) ist bekannt, dass bei mit Blausäure vergifteten Fröschen das venöse Blut eine hellrothe Farbe annimmt, aber dieselbe nicht, wie bei Säugethieren, bald wieder verliert, sondern während der Dauer der Vergiftung beibehält. Eine Erklärung dieser Erscheinung ist bisher nicht bekannt geworden, und so legte mir Herr Prof. Hoppe-Seyler die Frage zur Untersuchung vor, ob jener Unterschied in der Wirkung der Blausäure auf die Farbe des Blutes der Warm- und Kaltblüter etwa auf der Verschiedenheit der Temperatur des Blutes beruhen möge?

Zur Beantwortung dieser Frage wurden Frösche in einen halb mit 0,7 °/₀ Kochsalzlösung gefüllten Topf gebracht, welcher oben mit einer Glasplatte verschlossen werden konnte; sodann wurde der Topf auf ein Wasserbad gestellt und das Wasser ganz allmälig auf ca. 37° erwärmt. Bei dieser Temperatur ging ein Theil der Frösche zu Grunde, während ein anderer Theil zwar regungslos dalag, aber noch ziemlich gut athmete. Letztere wurden herausgenommen, auf einem Brettchen ausgespannt und schnell bei ihnen das Herz blosgelegt. Das Blut im Herzen zeigte sich jetzt unter dem Einfluss der erhöhten Temperatur dunkel venös gefärbt; wurden nun diese Frösche mit einem Tropfen Blausäure vergiftet und auf dem Brettchen liegend wieder in die erwärmte Kochsalzlösung gebracht, so konnte man beobachten, wie nach einiger Zeit das Blut eine hellere kirschrothe Farbe annahm, wie diese Färbung aber bald einer dunkel venösen Platz machte, welche nun fortbestehen blieb. Vergiftete man später zum zweiten Male, so wiederholte sich dieselbe Erscheinung. Nahm man einen der so vergifteten noch lebenden Frösche aus der

---

[1]) Leçons sur les substances toxique et médicamenteuses.

[2]) Die Ursache der Giftigkeit des Cyankalium und der Blausäure, Virchow's Archiv f. path. Anat. u. Phys., Bd. XL.

erwärmten Kochsalzlösung heraus und liess ihn sich langsam an der Luft abkühlen, so wurde die Farbe des Blutes allmälig hellroth und blieb so bis zum Ablauf der Vergiftung bestehen.

Nach diesen öfters mit demselben Resultate wiederholten Versuchen scheint der Unterschied in der Giftwirkung der Blausäure auf die Farbe des Venenblutes bei Kalt- und Warmblütern in der That auf der Verschiedenheit der Bluttemperatur zu beruhen.

Fasse ich die Resultate der von mir angestellten Versuche zusammen, so komme ich zu folgendem Ergebniss:

1. Bei künstlicher Absperrung der O-Zufuhr zu Muskel und Leber wird in diesen Organen während des Lebens Milchsäure in vermehrter Menge gebildet.
2. Der verminderte Alkalescenzgehalt des Blutes bei der Blausäurevergiftung ist durch das vermehrte Auftreten von Milchsäure im Blute bedingt.
3. Der Zuckergehalt des Blutes ist bei der Blausäurevergiftung etwas erhöht.
4. Die Verschiedenheit der Blausäure-Wirkung auf die Verfärbung des Venenblutes bei Warm- und Kaltblütern beruht auf dem Unterschied der Bluttemperatur.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Hoppe-Seyler für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die äusserst liebenswürdige Unterstützung bei den Versuchen meinen ganz gehorsamsten Dank abzustatten.

Anmerkung. In der Dissertations-Ausgabe dieser Arbeit sind folgende Aenderungen nöthig. Es ist auf Seite 11 derselben Zeile 4 statt 0,031 zu setzen 0,0418, auf Seite 14 Zeile 12 statt 0,064 zu setzen 0,0463 und auf Seite 20 Zeile 11 statt 0,0931 zu setzen 0,0922 ZnS.

Ueber das Lecithin der Pflanzensamen.

Von

E. Schulze und **A. Likiernik.**

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 13. März 1891.)

Bekanntlich gründet sich die Ueberzeugung von der Verbreitung des Lecithins in den Pflanzen auf die Wahrnehmung, dass ätherische Extracte aus Pflanzensamen, Knospen u. s. w. nicht nur phosphorhaltig sind, sondern auch bei der Verseifung Cholin und andere Zersetzungsproducte des Lecithins liefern[1]. Eine Isolirung des pflanzlichen Lecithins war aber unseres Wissens bis jetzt noch nicht erfolgt. Der Erreichung dieses Zieles stehen manche Schwierigkeiten entgegen. Extrahirt man pflanzliche Objecte mit Aether, so gehen neben Lecithin auch Glyceride, freie Fettsäuren, wachsartige Substanzen, Cholesterin und Farbstoffe in Lösung. Aus einem solchen Gemenge das Lecithin zu isoliren, ist zwar vielleicht nicht unmöglich, aber doch ohne Zweifel eine nicht leicht zu lösende Aufgabe.

Ein Weg zur Darstellung des pflanzlichen Lecithins eröffnete sich durch eine Beobachtung, welche der Eine von uns in Verbindung mit E. Steiger in dieser Zeitschrift[2] früher mitgetheilt hat. Sie besteht darin, dass fein gepulverte

[1] Wie insbesondere durch F. Hoppe-Seyler (Tübinger medicin.-chemische Untersuchungen, I, S. 141, 215 und 219) nachgewiesen wurde. M. vgl. auch Jacobson, Ueber einige Pflanzenfette, diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 32.

[2] Bd. 13, S. 365.

Pflanzensamen bei erschöpfender Behandlung mit Aether an den letzteren das Lecithin nur theilweise abgeben, dass aber der ungelöst gebliebene Rest sich durch warmen Weingeist leicht ausziehen lässt. Es sei hervorgehoben, dass diese Beobachtung mit den an manchen thierischen Objecten gemachten Erfahrungen im Einklang steht. So fand z. B. F. Hoppe-Seyler[1]), dass die rothen Blutkörperchen, nachdem sie zuvor mit Aether erschöpfend extrahirt wurden, an Weingeist noch viel Lecithin abgaben. Aehnliches gilt auch für den Eidotter. Hoppe-Seyler[2]) hält es für das Wahrscheinlichste, dass in letzterem das Lecithin in einer Verbindung mit Vitelin sich vorfindet, welche von Aether wenig angegriffen wird, bei Behandlung mit warmem Weingeist aber sich zersetzt. Auch die an den Pflanzensamen beobachtete Erscheinung würde sich durch die Annahme erklären lassen, dass in denselben das Lecithin in einer lockeren, beim Erhitzen mit Weingeist sich zersetzenden Verbindung mit einem Eiweissstoff enthalten ist[3]).

Wenn man die lecithinhaltige Lösung, welche bei Behandlung der zuvor mittelst Aethers entfetteten Samen mit Weingeist entsteht, eindunstet und den Verdampfungsrückstand mit Aether behandelt, so wird das Lecithin von letzterem leicht aufgenommen. Die so erhaltene Lösung schliesst weder Glyceride, noch freie Fettsäuren, wachsartige Substanzen und Cholesterin ein, da diese Stoffe durch die Behandlung der fein gepulverten Samen mit Aether entfernt wurden; sie ist aber keineswegs eine reine Lecithinlösung, wie sich daraus ergiebt, dass der beim Eindunsten derselben bleibende Trockenrückstand im Phosphorgehalt beträchtlich hinter Lecithin zurückbleibt. Die neben letzterem Körper noch vorhandenen

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 14. S. 442.

[2]) Handbuch der physiologischen Chemie, S. 781.

[3]) Da aber nach den Versuchen von E. Schulze und E. Steiger (loc. cit.) aus verschiedenen Mustern der gleichen Samensorte das Lecithin durch Aether in sehr ungleichem Maasse in Lösung gebracht wird, so scheint man annehmen zu müssen, dass nur ein Theil desselben sich in einer solchen Verbindung mit einer anderen Substanz vorfindet.

Stoffe lassen sich aber durch Schütteln der ätherischen Lösung mit Wasser entfernen. Dabei war jedoch eine Schwierigkeit zu überwinden. Beim Schütteln jener Lösungen mit Wasser bildeten sich nämlich Emulsionen, welche sich auch bei langem Stehen nur unvollständig und in manchen Fällen gar nicht trennten. Es zeigte sich aber, dass eine Trennung dieser Emulsionen bewirkt werden konnte, indem man denselben Kochsalzkrystalle zufügte und dann kräftig durchschüttelte. Es bildeten sich nun klare ätherische Lecithinlösungen, welche sich ohne Schwierigkeit von den darunter stehenden wässrigen Schichten trennen liessen.

Auf die im Vorigen mitgetheilten Beobachtungen lässt sich ein Verfahren zur Abscheidung des Lecithins aus Pflanzensamen gründen. Wir haben dasselbe auf Wicken- und Lupinensamen angewendet, und zwar in folgender Weise: Das auf's Feinste gepulverte Untersuchungsmaterial[1]) wurde mit Aether[2]) extrahirt, bis der letztere nur noch minimale Substanzmengen in Lösung brachte; dann behandelten wir es bei ungefähr 60° mit 95procentigem Weingeist. Bei dieser Extraction wurde zur Abstumpfung der in geringer Menge vorhandenen organischen Säuren entweder etwas Calciumcarbonat eingerührt, oder es wurde so viel Alkali zugefügt, dass die durch Titration eines weingeistigen Extracts ermittelte Säuremenge[3]) grösstentheils neutralisirt sein musste[4]). Den

---

[1]) Die Lupinensamen waren vor der Zerkleinerung entschält worden, die Wickensamen dagegen nicht.

[2]) Statt des Aethers hätte man vielleicht mit Vortheil Benzol anwenden können. Denn E. Stellwag (Landw. Versuchsstationen, Bd. 37, S. 152) fand einen Benzol-Extract aus Lupinensamen fast völlig frei von Phosphor, also von Lecithin.

[3]) Die Bestimmung wurde in der Weise ausgeführt, dass der weingeistige Extract bei gelinder Wärme eingedunstet, der Rückstand mit Aether und Wasser geschüttelt wurde. Die wässrige Schicht, welche sich in diesem Falle gut von der ätherischen trennen liess, wurde sodann mit Barytwasser titrirt.

[4]) Das Endresultat scheint sich aber kaum zu ändern, wenn man den Zusatz einer alkalischen Substanz unterlässt. M. vgl. auch diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 154—157.

so gewonnenen weingeistigen Extract dunsteten wir in einer Schale bei 40—50° ein und behandelten den Verdampfungsrückstand mit Aether. Die vom Ungelösten abgegossene ätherische Lösung wurde so oft mit Wasser geschüttelt, bis letzteres nichts mehr aufnahm; die beim Durchschütteln sich bildenden Emulsionen trennten wir in der oben angegebenen Weise. Die nach diesem Verfahren gereinigte Lecithinlösung wurde nun bei gelinder Wärme eingedunstet, der Verdampfungsrückstand bei 50° mit absolutem Alkohol behandelt. Der grösste Theil des Rückstandes löste sich auf; es blieb ein in Alkohol sehr schwer löslicher Rest, von welchem später noch die Rede sein soll. Die so gewonnene Lösung lieferte bei der Abkühlung in einer Kältemischung eine Ausscheidung, welche nach dem Abgiessen der Mutterlauge mit kaltem Weingeist gewaschen und sodann im Exsiccator über concentrirter Schwefelsäure getrocknet wurde. Die Mutterlauge gab, nachdem sie durch Verdunsten concentrirter gemacht worden war, beim Abkühlen wieder eine Ausscheidung, welche ebenso wie die erste behandelt und dann mit dieser vereinigt wurde.

Das nach diesem Verfahren gewonnene Product zeigte die Eigenschaften des Lecithins. Es war gelblich gefärbt, löslich in Aether und warmem Weingeist, mit Wasser aufquellend, aber sich darin nicht lösend, zwischen den Fingern knetbar, beim Erhitzen unter Bräunung sich zersetzend. Seine ätherisch-alkoholische Lösung gab auf Zusatz von alkoholischem Platinchlorid einen gelblich-weissen Niederschlag, welcher in reinem Aether löslich war. Auch alkoholisches Cadmiumchlorid gab eine weissliche Fällung; dieselbe löste sich in salzsäurehaltigem Weingeist.

Krystallisirt haben wir unser Product bis jetzt nicht erhalten können[1]).

---

[1]) Bekanntlich vermochte Hoppe-Seyler das aus Eidotter dargestellte Lecithin bei Winterkälte in den krysstallisirten Zustand überzuführen, während Diakonow es nur in amorphem Zustand erhielt.

Die Phosphorbestimmung, welche nach dem von Hoppe-Seyler[1]) angegebenen Verfahren ausgeführt wurde, gab folgende Resultate:

1. 0,2844 gr. eines aus Wicken dargestellten Präparats gaben 0,0374 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 0,010454 gr. P.

2. 0,3264 gr. eines aus Lupinen dargestellten Präparats gaben 0,0432 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 0,012074 gr. P.

Für den procentigen Phosphorgehalt der beiden Präparate berechnen sich daraus folgende Zahlen:

	I.	II.
P =	3,67 %	3,69 %.

Zur Vergleichung sei angeführt, dass Diakonow[2]) im Lecithin aus Eidotter 3,62 % Phosphor gefunden hat. Die Theorie verlangt, dass Lecithin, je nachdem es das Radical der Oelsäure, Palmitinsäure oder Stearinsäure einschliesst, folgende Phosphormengen enthält.

	Dioleyl-Lecithin:	Dipalmityl-Lecithin:	Distearyl-Lecithin:
P =	3,86 %	4,12 %	3,84 %.

Für das von uns untersuchte Product, welches nach den w. u. folgenden Mittheilungen ohne Zweifel ein Gemenge mehrerer Lecithine war, ist also ebenso wie für das thierische Lecithin der Phosphorgehalt etwas zu niedrig gefunden worden (wobei freilich vorausgesetzt wird, dass es nicht ausser den Radicalen der oben genannten Säuren noch andere Fettsäureradicale enthielt).

Wie oben erwähnt wurde, blieb beim Behandeln des Verdampfungsrückstandes der ätherischen Lecithinlösung mit absolutem Alkohol bei 50° ein in letzterem Lösungsmittel sehr schwer löslicher Rest. Derselbe kann aber nach seinen Eigenschaften kaum etwas Anderes als Lecithin gewesen sein. Als er in Aether gelöst, die filtrirte Lösung eingedunstet und in dem bei 95° getrockneten Verdampfungsrückstande eine Phosphorbestimmung ausgeführt wurde, ergab sich ein Re-

---

[1]) Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Auflage, S. 82.

[2]) M. vgl. Gmelin's Handbuch der Chemie, Bd. 7, S. 2315.

sultat, welches auf Lecithin stimmt, wie folgende Zahlen beweisen:

0,4950 gr. Substanz gaben 0,0690 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 0,019285 gr. P.

Demnach ist der procentige Phosphorgehalt:

P = 3,91 %.

Ob dieses Lecithin etwa durch die Natur des in ihm enthaltenen Fettsäureradicals schwer löslich in Alkohol gemacht wurde, oder ob andere Umstände daran die Schuld trugen, wissen wir nicht.

Es ist ferner noch zu erwähnen, dass wir auch noch Phosphorbestimmungen in den Verdampfungsrückständen zweier in oben beschriebener Weise durch Schütteln mit Wasser gereinigten ätherischen Lecithinlösungen ausgeführt haben. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

1. 0,2204 gr. der bei 95° bis zu annähernder Constanz des Gewichts getrockneten Substanz gaben 0,0292 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 0,0081614 gr. P.
2. 0,4790 gr. der ebenso behandelten Substanz gaben 0,0652 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 0,018250 gr. P.

Der procentige Phosphorgehalt des trockenen Rückstandes betrug also:

	I.	II.
P =	3,70 %	3,81 %.

Aus einem Vergleich dieser Zahlen mit den w. o. schon aufgeführten ergiebt sich die Schlussfolgerung, dass die für die Versuche verwendeten ätherischen Lösungen neben Lecithin nur ganz unwesentliche Quantitäten anderer Stoffe enthielten.

Um den Beweis für die Identität des aus Wicken- und Lupinensamen von uns dargestellten Products mit Lecithin zu vervollständigen, mussten wir noch die Zersetzungsproducte desselben darstellen. Für diesen Zweck konnten wir ohne Bedenken den Gesammtrückstand einer in oben beschriebener Weise dargestellten und durch Schütteln mit Wasser von den Verunreinigungen befreiten ätherischen Lecithinlösung verwenden, da derselbe nach den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen fast ausschliesslich aus Lecithin bestand. Wir kochten ein grösseres Quantum dieses Rückstandes ungefähr 2 Stunden lang mit Barytwasser und trennten

die dabei erhaltenen Zersetzungsproducte des Lecithins nach den von Hoppe-Seyler[1]) gegebenen Vorschriften. Die bei der Zersetzung entstandenen Barytsalze der fetten Säuren wurden abfiltrirt, das Filtrat zum Syrup eingedunstet und sodann in der Wärme mit absolutem Alkohol behandelt. Cholin ging in Lösung, während die Glycerinphosphorsäure als Baryumsalz zurückblieb.

Nachweis des Cholins. Die durch nochmaliges Eindunsten, Wiederaufnehmen in absolutem Alkohol und Filtriren gereinigte Cholinlösung versetzten wir mit einer alkoholischen Platinchloridsolution. Es entstand ein hellgelber Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit Weingeist gewaschen und sodann in Wasser gelöst wurde. Die Lösung gab beim Verdunsten hübsche orangerothe Krystalle, zumeist 6seitige Täfelchen, welche im Aussehen mit Cholinplatinchlorid übereinstimmten. Die Platinbestimmung ergab ein Resultat, welches der Formel des Cholinplatinchlorids = $(C_5H_{14}NO)_2PtCl_6$ entspricht, wie folgende Angaben beweisen:

0,3395 gr. der bei 95° getrockneten Substanz gaben 0,1074 gr. Pt.

	Berechnet:	Gefunden:
Pt =	31,61 %[2])	31,63 %.

Das bei Zerlegung des Platindoppelsalzes durch Schwefelwasserstoff erhaltene Chlorhydrat gab in wässriger Lösung folgende Reactionen:

Mit Phosphorwolframsäure	weisser Niederschlag,
» Phosphormolybdänsäure	gelblicher Niederschlag,
» Kaliumwismuthjodid	rother Niederschlag,
» Kaliumquecksilberjodid	gelber Niederschlag,
» Jod-Jodkalium	brauner Niederschlag,
» Goldchlorid	gelber Niederschlag, löslich in heissem Wasser,
» Gerbsäure	0.

Mit einem Alkali versetzt, entwickelte die Lösung des Chlorhydrats langsam den Geruch nach Trimethylamin.

---

[1]) Handbuch der physiol.- und patholog.-chem. Analyse, 5. Auflage, S. 168.

[2]) Pt = 194,6 gerechnet.

Schliesslich wurde noch das Golddoppelsalz dargestellt. Dasselbe krystallisirte in hübschen Krystallen, welche in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem ziemlich leicht löslich waren. Die Goldbestimmung ergab ein Resultat, welches der Formel des Cholingoldchlorids = $C_5H_{14}NOAuCl_4$ entspricht, wie folgende Zahlen beweisen:

0,3458 gr. der bei 95° getrockneten Substanz gaben 0,1531 gr. Au.

		Berechnet:	Gefunden:
Au	=	44,43 %	44,27 %.

Nachweis der Glycerinphosphorsäure. Der in Alkohol unlösliche Theil des oben näher beschriebenen Syrups musste, nachdem durch die Extraction mit Alkohol das Cholin entfernt worden war, aus glycerinphosphorsaurem Baryum bestehen. Derselbe sollte demgemäss in Wasser löslich sein, Baryum enthalten, beim Verbrennen unter Salpeter- und Sodazusatz eine phosphorsäurehaltige Schmelze geben und endlich wegen seines Glyceringehalts beim Erhitzen mit Monokaliumsulfat Acroleïndämpfe entwickeln. Alles dies trat in der That ein; es konnte demnach dieser Rückstand für glycerinphosphorsaures Baryum erklärt werden.

Da dieses Salz nicht oder doch wenigstens nur schwierig krystallisirt, so stellten wir aus demselben das glycerinphosphorsaure Zink dar, indem wir die heisse, wässrige Lösung des Baryumsalzes so lange mit Zinksulfat versetzten, als noch ein Niederschlag entstand, und die vom Baryumsulfat abfiltrirte Lösung sodann zur Krystallisation verdunsteten. Wir erhielten das Zinksalz in kleinen, weissen, warzenförmigen Krystallaggregaten. Dieselben wurden durch Aufstreichen auf eine Thonplatte von der Mutterlauge befreit und sodann zur Zinkbestimmung verwendet, wobei sich folgendes Resultat ergab:

0,1710 gr. Substanz (bei 95° getrocknet) gaben 0,0401 gr. ZnS.

Dieses Resultat stimmt auf ein saures Zinksalz der Formel $Zn(C_3H_8PO_6)_2$ (analog dem $Ca(C_3H_8PO_6)_2$), wie folgende Zusammenstellung zeigt:

		Berechnet:	Gefunden:
Zn	=	15,97 %	15,71 %.

Im Filtrate von Schwefelzink gab Bleizucker einen flockigen Niederschlag von glycerinphosphorsaurem Blei.

Nachweis der Fettsäuren. Die bei der Spaltung des Lecithins erhaltenen Baryumseifen wurden durch Erhitzen mit verdünnter Salzsäure zersetzt, die als ölige Schicht auf der Oberfläche der Flüssigkeit abgeschiedenen Fettsäuren nach dem Erkalten in Aether gelöst. Nachdem die ätherische Lösung durch Schütteln mit Wasser gereinigt worden war, wurde sie zur Trockne verdunstet. Um die so erhaltenen Säuren zunächst in die Natriumseifen überzuführen, lösten wir sie in Natronlauge, verdunsteten die Lösung nach dem Einleiten von Kohlensäure zur Trockne und behandelten den Verdampfungsrückstand mit Weingeist. Die weingeistige Seifenlösung wurde sodann mit Bleiacetat versetzt, der durch dieses Reagens hervorgebrachte Niederschlag abfiltrirt, getrocknet und behufs der Trennung des ölsauren Bleies von den Bleisalzen der festen Fettsäuren mit Aether extrahirt. Die ätherische Lösung versetzten wir mit Salzsäure, wobei Chlorblei sich ausschied. Die von letzterem abfiltrirte Flüssigkeit, welche die Oelsäure enthalten musste, wurde eingedunstet. Die auf diese Weise erhaltene flüssige Säure haben wir in das Baryumsalz übergeführt. Zu diesem Zwecke wurde sie in Ammoniak gelöst und die Lösung mit Baryumchlorid versetzt. Den dabei entstandenen flockigen Niederschlag haben wir filtrirt, getrocknet und dann mit kochendem absolutem Weingeist behandelt. Er löste sich darin sehr schwer auf; die Lösung gab beim Erkalten eine Ausscheidung, welche getrocknet und sodann zu einer Baryumbestimmung verwendet wurde; dabei ergab sich folgendes Resultat:

0,1661 gr. der getrockneten Substanz gaben beim Behandeln mit concentrirter Sehwefelsäure und Abdunsten derselben 0,0558 gr. $BaSO_4$.

Dieses Resulsat stimmt auf ölsaures Baryum = $Ba(C_{18}H_{33}O_2)_2$, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

	Berechnet:	Gefunden:
Ba =	19,62 %	19,73 %.

Die nach der Extraction des ölsauren Baryums zurückbleibenden Bleisalze wurden mit Salzsäure zerlegt und die

dabei erhaltenen festen Fettsäuren aus Alkohol mehrmals umkrystallisirt. Die so gewonnenen Krystalle schmolzen bei 56° C., können demnach ein Gemenge von Stearinsäure und Palmitinsäure gewesen sein[1]).

Einen Versuch zur Trennung und Reindarstellung dieser Säuren haben wir nicht gemacht. Denn bekanntlich ist für diesen Zweck eine grosse Materialmenge erforderlich.

Aus den im Vorigen[2]) gemachten Mittheilungen ergiebt sich, dass man aus Pflanzensamen eine Substanz abscheiden kann, welche in den Eigenschaften mit dem thierischen Lecithin übereinstimmt und die gleichen Zersetzungsproducte liefert, wie dieses — nämlich Cholin, Glycerinphosphorsäure und fette Säuren. Der Beweis für das Vorhandensein von Lecithin im Pflanzenorganismus ist dadurch vervollständigt worden.

Da das von uns untersuchte Lecithinpräparat bei der Zersetzung sowohl feste Fettsäuren als Oelsäure lieferte, so ist anzunehmen, das dasselbe ein Gemenge mehrerer Lecithine war. Das Gleiche gilt bekanntlich auch für das Lecithin des Eidotters.

Der Gehalt der Pflanzensamen an Lecithin ist kein unbeträchtlicher. Nach den von E. Schulze und E. Steiger[3]) ausgeführten Bestimmungen berechnet sich aus dem Phosphorgehalt des ätherisch-alkoholischen Extracts für Leguminosensamen ein Lecithingehalt von 0,81—1,64%, für Cerealiensamen ein solcher von 0,57—0,74%.

Es scheint, dass der Lecithingehalt der Samen mit dem Stickstoffgehalt derselben steigt. Denn es wurde nicht nur in den stickstoffreichen Leguminosensamen in allen Fällen mehr Lecithin gefunden, als in den Cerealien, sondern es zeichneten sich auch von den ersteren insbesondere die stickstoffreichen Lupinen und Sojabohnen durch relativ hohen Lecithingehalt aus.

---

[1]) Nach der Tabelle von Heintz schmilzt ein Gemenge von 50% Stearinsäure und 50% Palmitinsäure bei 56,6° C.

[2]) Vgl. auch Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 71.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 365.

Ueber das Lupeol.

Von

A. Likiernik.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 13. März 1891.)

Bei Ausführung einer Untersuchung über die in Aether löslichen Bestandtheile der Samen von Lupinus luteus entdeckte E. Schulze[1]), dass man aus den Schalen der genannten Samen nach dem für die Darstellung des Cholesterins gewöhnlich angewendeten Verfahren einen gut krystallisirenden Stoff abscheiden kann, welcher nicht die Reactionen des Cholesterins giebt. Auf Veranlassung des Genannten habe ich diesen Stoff, für welchen ich den Namen Lupeol vorschlage, näher untersucht. Die dabei erhaltenen Resultate theile ich im Folgenden mit[2]).

Darstellung des Lupeols.

Um das Lupeol in einer zur genaueren Untersuchung hinreichenden Menge darstellen zu können, bedurfte ich eines grossen Quantums von Lupinenschalen; denn der Gehalt der letzteren an Lupeol ist nur sehr gering.

Es ist nicht schwierig, die Schalen von den Lupinensamen abzuziehen, nachdem man letztere zuvor in Wasser hat aufquellen lassen. Man erhält die Schalen auf diesem Wege völlig frei von Theilen des eigentlichen Samenkörpers (des Embryos). Ein aus diesem Material dargestellter Aetherextract, in welchem weder Glyceride, noch Cholesterin

[1]) M. vergl Landwirthsch. Versuchsstationen, Bd. 36, S. 411.

[2]) Eine kurze Mittheilung über die Resultate ist in den Berichten der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 183, erfolgt.

nachgewiesen werden konnten, diente zu den ersten Versuchen, welche über die Darstellung des Lupeols angestellt wurden.

Um auf jene mühsame Weise eine für Ausführung de ganzen Untersuchung hinreichende Quantität Samenschalen zu gewinnen, hätte es jedoch eines ausserordentlich grossen Arbeitsaufwandes bedurft. Wir benutzten daher gern das gefällige Anerbieten des Herrn Mühlenbesitzers J. Maggi in Kempthal, uns auf maschinellem Wege einige Centner Lupinensamen zu entschälen. Allerdings erhält man auf diesem Wege die Schalen nicht absolut frei von Theilen des eigentlichen Samenkörpers; aber es sind doch letztere nur in so geringem Maasse beigemengt, dass die Reindarstellung des Lupeols aus den Schalen nur wenig erschwert wird.

Die auf diesem Wege erhaltenen Samenschalen wurden in der chemischen Fabrik des Herrn Siegfried in Zofingen mit Aether extrahirt.

Auf diese Weise kam ich in Besitz von ca. 200 gr. des beim Eindunsten der ätherischen Lösung zurückbleibenden Rohextracts[1]), der eine gelb gefärbte Masse von butterartiger Consistenz darstellte.

Die zähe Masse wurde mit alkoholischem Kali am Rückflusskühler 3 Stunden gekocht[2]). Die so erhaltene Lösung habe ich im Wasserbade eingedunstet, bis der Alkohol fast vollständig verjagt war. Den gelb gefärbten Verdampfungsrückstand, welcher beim Erkalten theilweise krystallinisch wurde, nahm ich in viel Wasser auf und schüttelte die Flüssigkeit mit Aether durch. Es entstand eine Emulsion, welche sich zuweilen ziemlich rasch, zuweilen aber nur sehr langsam und unvollständig in eine ätherische und wässerige Schicht trennte[3]). Welche Umstände das nicht immer gleiche Ver-

---

[1]) Es sei hier erwähnt, dass die Samenschalen nur ungefähr 0,7 % Aetherextract liefern.

[2]) Die neue Methode zur Verseifung für Fettsäureäther von Kossel und Obermüller (diese Zeitschr., Bd. 14, S. 599) war noch nicht bekannt, als ich meine Arbeit ausführte

[3]) Aehnliche Schwierigkeiten haben Andere bei solchen Verfahren beobachtet. Vgl. Inaug.-Dissert. Jacobson, 1887, Königsberg.

halten der Emulsion bedingen, vermag ich nicht mit Sicherheit anzugeben, es scheint aber, dass der Concentrationsgrad der wässerigen Seifenlösung dabei eine Rolle spielt. Denn ich habe beobachtet, dass die Trennung der Emulsionen im Allgemeinen um so schwieriger erfolgt, je concentrirter die Seifenlösungen sind, welche man mit Aether durchschüttelt. Doch sind wahrscheinlich noch andere Umstände von Einfluss. Bei dieser Sachlage muss es wünschenswerth erscheinen, Mittel zur Beschleunigung der Klärung der Emulsionen zu besitzen. Ich habe gefunden, dass Zusatz von Natriumchloridkrystallen und darauf folgendes Schütteln ein solches Mittel ist. Dieser Zusatz braucht nicht in solchem Maasse zu geschehen, dass derselbe eine Ausscheidung der Seifen zur Folge hat; gesetzt aber, dass doch eine solche Ausscheidung in geringem Maasse erfolgt sein sollte, so kann man dieselbe beseitigen, indem man nach Entfernung der geklärten Wasserschicht, später zu der Aetherschicht reines Wasser zusetzt und noch einmal durchschüttelt.

Uebrigens tritt der oben erwähnte Uebelstand, d. h. die langsame Trennung der Emulsionen fast ausnahmslos nur beim ersten Durchschütteln der Seifenlösung mit Aether ein; wenn man nach dem Abheben des ersten ätherischen Auszugs noch mehrere Male mit neuen Aethermengen durchschüttelt, was zur vollständigen Gewinnung der in Aether löslichen Stoffe erforderlich ist, so trennen sich die nun entstehenden Emulsionen in der Regel rasch.

Der beim Abdestilliren der stark gelb gefärbten ätherischen Lösung bleibende Rückstand stellte eine Krystallkruste dar, die nach dreimaligem Umkrystallisiren aus Aceton ganz weiss und in Form kleiner Nadeln gewonnen wurde. Die auf diese Weise dargestellte Substanz hatte den Schmelzpunkt 195° und zeigte eine schwache Cholesterinreaction. Wenn man nämlich einige Centigramme der Substanz in Chloroform löste, Essigsäureanhydrid und einen Tropfen concentrirte Schwefelsäure[1]) zusetzte, bekam man eine für Cho-

---

[1]) Burchard, Inaug.-Dissert., Rostock 1889.

lesterin charakteristische Grünfärbung, die aber nach kurzer Zeit verschwand; die Lösung nahm dann eine rothviolette Färbung an. Dieseses Resultat machte es wahrscheinlich, dass die Substanz noch eine geringe Menge Cholesterin (Phytosterin) einschloss, welche höchst wahrscheinlich aus den in sehr geringer Menge den Schalen beigemengten Theilen des Embryos stammten, und es musste daher eine weitere Reinigung vorgenommen werden.

Es schien angezigt, für diesen Zweck ein Verfahren anzuwenden, welches von E. Schulze und J. Barbieri[1]) auch für Cholesterine mit Vortheil verwendet worden ist, nämlich Ueberführung der Substanz in eine Benzoylverbindung und Zerlegung der letzteren, nachdem sie durch Umkrystallisiren genügend gereinigt war. Dieser Weg musste in diesem Falle um so sicherer zum Ziele führen, als es sich herausstellte, dass die Benzoylverbindung des Lupeols in Aether ziemlich schwer löslich ist und demnach durch Umkrystallisiren aus diesem Lösungsmittel leicht von Beimengungen befreit werden kann.

Die Darstellung der Benzoylverbindung versuchte ich zuerst nach dem von Reinitzer[2]) für Cholesterylbenzoat angegebenen Verfahren, nämlich durch Zusammenschmelzen mit überschüssigem Benzoesäureanhydrid in einem offenen Kölbchen auszuführen. Ich fand dieses Verfahren in diesem Falle nicht zweckmässig, da der grösste Theil des Anhydrids sublimirt, den Hals des Kölbchens verstopft und eventuell neuen Zusatz von Anhydrid zur vollständigen Benzoylirung verlangt; auch färbte sich die Masse ziemlich stark braun, was Reinitzer bei der Darstellung des Cholesterylbenzoats nicht beobachtet hat[3]). Ich ging daher zu dem von

---

[1]) Journ. f. pr. Chemie [2], Bd. 25, S. 165.

[2]) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss., Bd. XCVII, S. 181.

[3]) Es ist gewiss möglich, dass die Reinitzer'sche Methode für das von dem Genannten verwendete Material (Gallenstein-Cholesterin) weit brauchbarer ist, da letzteres einen niedrigeren Schmelzpunkt besitzt als das Lupeol. Das beste Verfahren zur Darstellung Cholesterylbenzoats ist übrigens nach einer vor Kurzem erschienenen Mittheilung Obermüller's (diese Zeitsschr., Bd. 15) Erhitzen des Cholesterins mit Benzoylchlorid.

E. Schulze[1]) angewendeten Verfahren über, die Substanz mit Benzoesäureanhydrid in zugeschmolzener Glasröhre einige Stunden lang auf 190° zu erhitzen. Nach dem Erkalten wurde die Reactionsmasse aus dem Rohr herausgebracht, in einer Reibschale mit Weingeist zerrieben, auf's Filter gebracht, mit Alkohol gewaschen, dann in Aether gelöst. Beim Verdunsten der ätherischen Lösung bekam ich das Benzoat in schönen, prismatischen Krystallen, die eine Masse von homogenem Aussehen bildeten. Die Krystalle wurden mit Aether gewaschen und dann behufs der Zerlegung mit alkoholischem Kali gekocht. Die so erhaltene Lösung wurde im Wasserbade eingedampft, bis der Alkohol fast vollständig verjagt war, der Rückstand mit Wasser ausgerührt und mit Aether durchgeschüttelt. Die wasserhelle ätherische Lösung, die sich rasch von der wässerigen Schicht trennte, wurde der Destillation unterworfen, der dabei erhaltene ungefärbte Rückstand mehrmals aus Alkohol umkrystallisirt.

So erhielt ich das Lupeol, als eine schön krystallisirte, im Aussehen völlig homogene Substanz.

Eigenschaften und Zusammensetzung des Lupeols.

Das Lupeol krystallisirt in farblosen Nadeln, ohne Krystallwasser, bei langsamer Ausscheidung werden letztere ziemlich dick und zeigen dann Endflächen. Sie lösen sich nicht in Wasser, verdünnten Säuren und Basen, dagegen leicht in Aether, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Ligroin; in Weingeist, sowie in Aceton lösen sie sich in der Kälte schwer, in der Wärme ziemlich leicht. Aus diesen Lösungen wird es wieder durch Wasser in Form weisser Klumpen gefällt.

Das Lupeol giebt eine charakteristische Reaction; löst man nämlich ca. 0,01 gr. desselben in ca. 5 cbcm. Chloroform, setzt sodann 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und 2 Tropfen concentrirte Schwefelsäure zu, so färbt sich die Flüssigkeit bald röthlich; im Verlaufe von ca. 1/2 Stunde geht die Färbung in ein intensives Violettroth über. Diese schöne Reaction ist

---

[1]) Journ. f. pr. Chemie [2], Bd. 7, S. 170.

weniger empfindlich als diejenige, welche die Cholesterine mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure geben; sie liefert übrigens den Beweis, dass dem von mir untersuchten Lupeolpräparat kein Cholesterin (Phytosterin) mehr beigemengt war, denn bei Gegenwart des letzteren hätte Anfangs Grünfärbung eintreten müssen.

Schüttelt man die chloroformische Lösung des Lupeols mit Schwefelsäure vom specif. Gewicht 1,76 durch, so nimmt sie nach einiger Zeit eine braune Färbung an; dasselbe Resultat bekommt man, wenn man anstatt Chloroform — Schwefelkohlenstoff verwendet.

Bei vorsichtigem Erhitzen des Lupeols mit einem Tropfen concentrirter Salpetersäure bekommt man einen gelben Rückstand, der sich bei Zusatz von Ammoniak nicht verändert. Das Lupeol verhält sich folglich bei solcher Behandlung anders wie Cholesterin, auch giebt es nicht, wie letzteres, mit Jod und Schwefelsäure eine Färbung.

Es ist in concentrirter Salpetersäure unter Salpetersäureentwickelung löslich, auch in concentrirter Schwefelsäure, wobei die Lösung Anfangs rothviolett wird, nach kurzer Zeit aber dunkle Missfarbe annimmt. Das Lupeol schmilzt bei 204° C. und erstarrt krystallinisch, destillirt bei höherer Temperatur unter partieller Zersetzung, wobei es einen Geruch verbreitet, welcher auffallend an den des Juchtenleders erinnert.

Zur Elementaranalyse diente ein aus Alkohol wiederholt umkrystallisirtes Präparat; dasselbe wurde mit Kupferoxyd im Luft- und Sauerstoffstrome möglichst langsam verbrannt.

Dabei wurden folgende Resultate erhalten:

1. 0,3199 gr. bei 100° getrocknete Substanz gaben 0,9930 gr. CO_2 und 0,3355 gr. H_2O.
2. 0,2594 gr. gaben 0,8015 gr. CO_2 und 0,2689 gr. H_2O.
3. 0,2006 » » 0,6192 » » » 0,2080 » »
4. 0,1866 » » 0,5752 » » » 0,1886 » »
5. 0,1856 » » 0,5696 » » » 0,1862 » »

Diese Ergebnisse entsprechen am besten der Formel $C_{26}H_{42}O$, welche bei gleichem Kohlenstoff- und Wasserstoff-

gehalte zwei Atome Wasserstoff weniger enthält, wie diejenige des Cholesterins. Die folgende Zusammenstellung beweist dies:

	Berechnet für $C_{26}H_{42}O$:
C	84,32 %.
H	11,35 »
O	4,33 »

	Gefunden:					
	I.	II.	III.	IV.	V.	Mittel:
C	84,10	84.15	84,14	84,03	83,80	84,04 %.
H	11,64	11,50	11,47	11.23	11,10	11,38 »

Auch die Formeln $C_{25}H_{40}O$ und $C_{27}H_{44}O$ würden aber möglich sein, wie aus folgender Zusammenstellung sich ergiebt:

	Berechnet für $C_{25}H_{40}O$:	Berechnet für $C_{27}H_{44}O$:	Gefunden im Mittel:
C	84,28	84,37	84,04 %.
H	11,23	11,45	11,38 »
O	4,50	4,28	—

Wie bei den Cholesterinen, so giebt also auch hier die Elementaranalyse keine völlige Entscheidung; man behält die Wahl zwischen mehreren Formeln.

Zur Motivirung der Formel $C_{26}H_{42}O$ sei noch angeführt, dass alle Analysen, sowohl des freien Lupeols, als auch der Benzoyl- und Acetyl-Verbindung desselben, weniger Wasserstoff ergaben, als im Cholesterin, bezw. in der Benzoyl- und Acetyl-Verbindung des letzteren enthalten ist, und dass die Differenz keineswegs als eine ganz geringfügige bezeichnet werden kann; denn das Cholesterin enthält nach der Theorie **11,96 %** Wasserstoff, während im Lupeol **11,10—11,64 %** Wasserstoff gefunden wurden. Man ist daher genöthigt, für dasselbe eine wasserstoffärmere Formel anzunehmen, als für das Cholesterin.

Das Lupeol ist optisch activ und zwar rechtsdrehend.

Die in einem Soleil-Ventzke'schen Apparate ausgeführte Bestimmung gab folgendes Resultat: Eine Lösung in Chloroform, die in 20 cbcm. 1,9944 gr. Substanz (in 100 cbcm.

9,9720 gr.) enthielt, drehte in dem genannten Apparate im 200 mm.-Rohr 15,6° nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha)_D$ folgendermassen:

$$t = 16^\circ \qquad a = 15{,}6 \quad l = 2 \quad p = 9{,}9720.$$

$$(\alpha)_D = \frac{a \times 0{,}346 \times 100}{l \times p}$$

$$(\alpha)_D = \frac{15{,}6 \times 0{,}346 \times 100}{1 \times 9{,}9720}$$

$$(\alpha)_D = +27{,}06^\circ.$$

Verbindungen des Lupeols.

Benzoylverbindung. Die Darstellung derselben ist oben beschrieben worden. Die Verbindung krystallisirt aus ätherischer Lösung bei langsamer Ausscheidung in durchsichtigen, glänzenden, gut ausgebildeten Prismen. Dieselben sind in Wasser unlöslich, in Aether schwer löslich, in Alkohol noch schwieriger.

Eine Löslichkeitsbestimmung führte ich in folgender Weise aus: Von einer gesättigten Lösung, welche durch wiederholtes Schütteln der fein gepulverten Substanz mit Aether dargestellt worden war, wurde ein abgewogener Theil eingedunstet und der Rückstand, nach dem Austrocknen im Luftbade, gewogen.

Es ergab sich, dass ein Theil der Substanz zur Lösung **63,65** Theile Aether bedurfte.

Die Benzoylverbindung giebt auch die oben beschriebene rothe Reaction mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure.

Das Lupeölbenzoat schmilzt bei 250° C. und erstarrt krystallinisch.

Bei Elementaranalyse der Krystalle wurden folgende Resultate erhalten:

1. 0,2004 gr. getrocknete Substanz gaben 0,6166 CO_2 und 0,1791 H_2O.
2. 0,1736 gr. gaben 0,5310 CO_2 und 0,1500 H_2O.

	Berechnet für $C_{26}H_{41}OC_7H_5O$:	Gefunden: I.	II.
C	83,54	83,87	83,44 °/₀.
H	9,78	9,93	9,60 »
O	6,68	—	—

Da das Benzoat des Lupeols in gut ausgebildeten Prismen krystallisirt, so erschien es wünschenswerth, dasselbe einer krystallographischen Untersuchung zu unterwerfen. Herr Prof. Dr. R. Haushofer in München hatte die grosse Güte, diese Untersuchung auszuführen. Ueber die Resultate derselben theilt er Folgendes mit:

Krystallform rhombisch.

a : b : c = 0,3571 : 1 : 0,1855.

Klare farblose Prismen der Combination:

∞P (110) = p, ∞P̆∞ (010) = b, P (111) = o.

Die Flächen der Pyramide (o) sind nicht blos sehr klein, oft geknickt und gebogen, sondern auch stets sehr unvollzählig ausgebildet, so dass bisweilen nur zwei derselben an einem Krystalle beobachtet wurden.

	Gemessen:	Berechnet:
o : o = (111) ($\bar{1}$11) =	*125° 51′	—
o : b = (111) (110) =	*99° 21′	—
o : p = (1ı1) (110) =	118° 30′	118° 54′
p : b = (110) (010) =	109° 46′	109° 39′
o : o = (111) (1$\bar{1}\bar{1}$) =	161° 20′	161° 18′

Acetylverbindung. Ich suchte dieselbe zuerst durch Erhitzen mit Essigsäureanhydrid in offenen Kölbchen, später nach der von Liebermann und Hörmann[1]) angegebenen Methode, durch Erhitzen mit Essigsäureanhydrid unter Zusatz von entwässertem Natriumacetat darzustellen.

Das in letzterer Weise gewonnene Product wurde durch Behandeln mit Wasser vom Natriumacetat und Essigsäure befreit und sodann aus Weingeist umkrystallisirt. Es krystallisirte aus letzterem Lösungsmittel in dünnen, meist federförmig vereinigten Nadeln, welche sich ziemlich leicht in kaltem Aether und kochendem Alkohol lösten. Die Krytsalle schmolzen bei 223° C.

Die Analyse hat folgende Resultate ergeben:

1. 0,1776 gr. getrocknete Substanz liefern 0,5349 gr. CO_2 und 0,1670 H_2O.
2. 0,1376 gr. gaben 0,4144 CO_2 und 0,1220 H_2O.

---

[1]) Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 11, S. 1619.

	Berechnet für $C_{26}H_{41}OC_2H_3O$:	Gefunden: I.	II.
C	81,55	81,96	82,08 %.
H	10,68	10,65	10,44 »
O	7,77	—	—

Bromverbindung. Da das Cholesterin sich bekanntlich mit zwei Atomen Brom zu der Verbindung $C_{26}H_{44}Br_2O$[1]) vereinigt, so erschien es wünschenswerth, zu prüfen, ob das Lupeol, ein in mancher Beziehung dem Cholesterin nahe stehender Körper, sich ähnlich verhält. Es gelang aber nur eine Verbindung des Lupeols mit einem Atom Brom zu erhalten, und es muss demnach angenommen werden, dass das Brom bei Einwirkung auf das Lupeol an Stelle eines Wasserstoffatoms tritt.

Ueber die Darstellung sind folgende nähere Angaben zu machen.

Das ganz reine und trockene Lupeol wurde im ersten Versuche in Schwefelkohlenstoff, in den späteren in Chloroform gelöst; der Flüssigkeit wurde eine Lösung von Brom in Schwefelkohlenstoff, bezw. in Chloroform nach und nach zugesetzt. Es trat bald Entfärbung ein. Nachdem ein beträchtlicher Theil des Broms zugesetzt war, machte sich Bromwasserstoffentwickelung bemerkbar; Erwärmung tritt nicht ein. Es wurde mit dem Zusatz des Broms fortgefahren, bis die Flüssigkeit sich nicht mehr entfärbte. Die Flüssigkeit wurde sodann im Wasserbade eingedunstet, der Rückstand einige Male mit Alkohol eingedampft, um Bromwasserstoff zu entfernen; nachdem dies geschehen war, wurde die Substanz aus Alkohol krystallisirt. Ich erhielt die Bromverbindung in kleinen, harten, warzenförmigen, weissen Krystallaggregaten. Der Schmelzpunkt liegt bei 165° C.; es sei erwähnt, dass die in zwei verschiedenen Darstellungen erhaltenen Präparate der Verbindung den gleichen Schmelzpunkt zeigten. Die Substanz löst sich auch in Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff.

---

[1]) Wislicenus und Moldenhauer, Lieb. Ann., Bd. CXXXXVI, S. 178.

Die Brombestimmungen gaben folgende Zahlen:

1. 0,2128 gr. Substanz gaben 0,0876 AgBr.
2. 0,2118 gr. Substanz gaben 0,0870 AgBr.

	Berechnet für $C_{26}H_{41}BrO$:	Gefunden: I.	II.	Mittel:
Br	17,81	17,48	17,42	17,45 %.

Das Lupeol muss nach den im Vorigen gemachten Mittheilungen als ein alkoholartiger Körper angesehen werden, und zwar darf man es wohl für einen den Cholesterinen nahe stehenden Stoff erklären, mit welcher Annahme in Uebereinstimmung steht, dass es sich in Pflanzentheilen findet, in denen in anderen Fällen Cholesterine auftreten (man vergleiche die nachfolgende Abhandlung).

Es unterscheidet sich aber von den Cholesterinen dadurch, dass ihm eine wasserstoffärmere Formel zukommt und dass es andere Reactionen giebt. Auch die Constitution der Bromverbindung scheint eine Vesschiedenheit des Lupeols vom Cholesterin zu begründen, wenigstens vom Gallenstein-Cholesterin, von welchem allein bis jetzt eine Bromverbindung dargestellt worden ist. Es sei noch darauf hingewiesen, dass Liebermann[1]) vom Cholestol, einem den Cholesterinen nahe stehenden Körper, eine Bromverbindung erhalten hat, welche gleichfalls nur ein Atom Brom enthält. Er vermuthet, dass ein Dibromid sich gebildet hatte, dass dasselbe aber bei den weiteren Manipulationen unter Entwickelung von Bromwasserstoff ein Atom Brom verlor.

---

[1]) Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 18, S. 1803.

Ueber einige Bestandtheile der Samenschalen von Pisum sativum und Phaseolus vulgaris.

Von

A. Likiernik.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 13. März 1891.)

Nachdem in den Samenschalen von Lupinus luteus das im vorigen Aufsatz besprochene Lupeol aufgefunden worden war, schien es angezeigt, auch die Schalen einiger anderer Leguminosensamen auf solche Körper zu untersuchen.

Zur Prüfung gelangten die Schalen von Pisum sativum, Phaseolus vulgaris und Lens esculenta.

In allen diesen Schalen fanden sich im Gegensatz zu denjenigen des Lupinus luteus Cholesterine[1]) vor, doch waren dieselben begleitet von anderen alkoholartigen Substanzen, deren Trennung von Cholesterinen jedoch mit beträchtlichen Schwierigkeiten verknüpft ist.

Genauer untersucht habe ich die aus den Samenschalen von Pisum sativum und Phaseolus vulgaris dargestellten Producte.

Die dabei erhaltenen Resultate theile ich im Folgenden mit.

I. Phytosterin aus den Samenschalen von Pisum sativum.

Die Samenschalen von Pisum sativum, von denen ich ein grösseres Quantum aus der Mühle der Herren Maggi & Cie. in Kempthal erhielt, wurden in der chemischen Fabrik des

[1]) Den Namen Cholesterine gebrauche ich hier, nach dem Vorgange Anderer, als Gruppenbezeichnung. Zur Gruppe der Cholesterine sind zu nehmen die aus dem Thierkörper dargestellten Substanzen dieses Namens (Gallensteincholesterin und Isocholesterin), sowie das Phytosterin und ähnliche aus den Pflanzen abgeschiedene Substanzen.

Herrn Siegfried in Zofingen mit Aether extrahirt. Der so erhaltene Aetherextract, welcher nach dem Abdestilliren des Aethers eine dunkelgrüne, fettig anzufühlende, zähe Masse bildete, war das Ausgangsmaterial für meine Versuche.

Ich erhitzte denselben mit alkoholischer Kalilauge, dunstete die erhaltene Lösung im Wasserbade bis zur Verjagung des Weingeistes ein, nahm den Verdampfungsrückstand in Wasser auf und schüttelte die Lösung mit Aether durch. Es entstand eine Emulsion, welche sich nach längerem Stehen in eine wässerige und eine ätherische Schicht trennte. Die letztere wurde abgehebert und der Destillation unterworfen, der Destillationsrückstand aus Weingeist krystallisirt. Es wurde so ein Product erhalten, welches die Eigenschaften eines Cholesterins zeigte. Der Schmelzpunkt desselben lag bei 128° C. Um ein möglichst reines Product zu erhalten, schien es auch hier angezeigt, eine Benzoylverbindung darzustellen, dieselbe durch Umkrystallisiren aus Aether zu reinigen und sodann wieder zu zerlegen.

Die Darstellung der genannten Verbindung erfolgte in derselben Weise wie beim Lupeol, durch Erhitzen des oben beschriebenen Products mit Benzoesäureanhydrid im zugeschmolzenen Rohr auf 160—170° C.

Das Reactionsproduct wurde unter Zusatz von Weingeist zerrieben, dann auf dem Filter in Aether gelöst, die Lösung zur Krystallisation gebracht.

Die so erhaltene Benzoylverbindung, welche aus ätherischer Lösung in Blättchen krystallisirt, zerlegte ich durch Erhitzen mit alkoholischem Kali, dunstete die so erhaltene Lösung ein und schüttelte den Verdampfungsrückstand mit Wasser und Aether durch. Nachdem sich die ätherische Lösung von der wässerigen getrennt hatte, wurde sie der Destillation unterworfen, der dabei erhaltene Rückstand aus Weingeist umkrystallisirt. So erhielt ich einen in glänzenden Nadeln krystallisirenden Körper, welcher in seinen Eigenschaften mit Phytosterin übereinstimmte. Derselbe schmolz bei 135°. Er gab sehr schön sowohl die Cholestolreaction, wie die Purpurrothfärbung beim Durchschütteln

seiner chloroformischen Lösung mit Schwefelsäure vom specif. Gewichte 1,76.

Auch die Schmelzpunkte der Benzoylverbindung und der gleichfalls von mir nach bekannter Methode dargestellten Acetylverbindung stimmten mit denjenigen der entsprechenden Phytosterinverbindungen überein. Der Schmelzpunkt der ersteren Verbindung wurde bei 145° C. gefunden, derjenige der Acetylverbindung bei 120° C., während nach den Angaben Jacobson's[1]) das Phytosterinbenzoat bei 145° C., nach Angaben von Hesse[2]) das Phytosterinacetat bei 120° C., nach Jacobson bei 117 bis 118° C. schmilzt.

Es liegen also keine Gründe vor, um das von mir erhaltene Product für verschieden von dem aus Erbsensamen von Hesse und später auch von Jacobson dargestellten Phytosterin zu erklären. Da dieses Product einen mit demjenigen des Phytosterins übereinstimmenden Schmelzpunkt erst zeigte, nachdem es durch Ueberführung in die Benzoylverbindung und Wiederabscheidung aus derselben gereinigt worden war, so ist zu vermuthen, dass ihm ursprünglich noch ein anderer, zur Klasse der Alkohole gehörender Körper beigemengt war.

In dem bei Behandlung der Erbsenschalen mit Aether erhaltenen Rohextract fanden sich Glyceride nur in höchst geringer Menge vor. Ich wies dies dadurch nach, dass ich eine Probe dieses Extractes mit Bleioxyd und Wasser erhitzte, das so erhaltene Product mit Wasser auslaugte und die Lösung in bekannter Weise auf Glycerin prüfte. Ich bekam dabei nur eine äusserst schwache Glycerinreaction.

II. Körper aus den Samenschalen von Phaseolus vulgaris.

Das Ausgangsmaterial für meine Versuche bildete ein grösseres Quantum des wiederum in der Fabrik von Herrn Siegfried in Zofingen für mich dargestellten Aetherrohextracts aus den in der Ueberschrift genannten Samenschalen.

---

[1]) Jacobson, Inaug.-Dissert., Königsberg 1887; diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 32.

[2]) Hesse, Ann. d. Chem., Bd. 229, S. 296.

Dieser Aetherextract bildete nach dem Abdestilliren des Aethers eine zähe gelbe Masse. Ich verarbeitete denselben genau in derselben Weise, wie die Extracte aus den Samenschalen der Lupinen und Erbsen, d. h. ich verseifte ihn mit alkoholischem Kali, dunstete die so erhaltene Lösung ein und schüttelte den Verdampfungsrückstand mit Wasser und Aether durch. Die von der wässerigen Schicht abgeheberte ätherische Lösung wurde der Destillation unterworfen; der Destillationsrückstand bildete eine ölige Masse, aus welcher sich nach dem Erkalten nur sehr langsam Krystalle ausschieden.

Die Untersuchung dieses Rückstandes liess leicht erkennen, dass hier ein Gemenge verschiedener Substanzen vorlag.

Zur Trennung derselben wurde folgender Weg eingeschlagen. Das Rohproduct habe ich mit Holzgeist behandelt, dabei ging ein beträchtlicher Theil desselben in Lösung; zurück blieb eine ölige Substanz, welche aber beim Erkalten allmälig fest wurde.

Die von letzterer abgegossene Lösung lieferte beim Erkalten eine reichliche, blättrig krystallinische Ausscheidung, welcher jedoch noch Oeltröpfchen beigemengt waren. Diese Substanz wurde abfiltrirt, zwischen Fliesspapier stark gepresst und sodann aus Weingeist wiederholt umkrystallisirt. Ich erhielt so ein in Blättchen krystallisirtes Product, welches bei 135° schmolz und nach seinen Eigenschaften für ein Cholesterin erklärt werden konnte.

Die zur weiteren Reinigung dieses Products angewendeten Mittel sollen weiter unten beschrieben werden; zunächst sei mitgetheilt, dass die bei Darstellung desselben resultirenden Mutterlaugen beim Verdunsten neben den blättrigen Krystallen kleine, zu knolligen Aggregaten vereinigte Täfelchen, welche sich im Habitus sehr stark von ersteren unterschieden, lieferten. Da dieselben sich aus der alkoholischen Lösung weit langsamer ausschieden, als die blättrigen Krystalle, so war es möglich, sie von letzteren durch fractionirte Krystallisation zu trennen.

So erhielt ich zwei Producte, welche zweifellos von einander verschieden waren und welchen ich die Namen «Paraphytosterin» und «Phasol» beilegen will.

Was die oben erwähnte ölige Substanz betrifft, welche bei Behandlung des Rohproducts mit Holzgeist zurückblieb, so liessen sich aus derselben durch Umkrystallisiren aus Weingeist noch Paraphytosterin und Phasol gewinnen. Es blieb stets noch eine in der Wärme ölige, beim Erkalten fest werdende Substanz, über deren Beschaffenheit ich nähere Angaben nicht machen kann.

a) Paraphytosterin.

Die völlige Reindarstellung des ersten blättrig krystallinischen Products suchte ich auf folgendem Wege zu erreichen: Ich krystallisirte dasselbe zunächst aus Alkohol um, bis es den Schmelzpunkt 135° C. zeigte, dann führte ich es in die Benzoylverbindung über, indem ich die Substanz mit gleichen Theilen Benzoësäureanhydrid im zugeschmolzenen Rohr auf 190—200° C. erhitzte. Das so gewonnene Product wurde durch Behandeln mit Alkohol von überschüssigem Benzoësäureanhydrid und von der bei der Reaction gebildeten Benzoësäure befreit, dann aus Aether umkrystallisirt, wobei es sich als schwer löslich in diesem Lösungsmittel erwies. Dann zerlegte ich das Benzoat durch Kochen mit alkoholischem Kali. Den in bekannter Weise von den anderen Zersetzungsproducten wieder getrennten freien Alkohol liess ich aus Weingeist krystallisiren; ich erhielt ihn so in sehr schönen, glänzenden, grossblättrigen Krystallen, welche im Aussehen dem Gallenstein-Cholesterin sehr ähnlich waren. Die Krystalle schmolzen bei 149—150° C.; die geschmolzene Masse erstarrte beim Erkalten krystallinisch. Eine Lösung einer geringen Substanzmenge in einigen Cubikcentimetern Chloroform nahm auf Zusatz von 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und 1 Tropfen concentrirter Schwefelsäure vorübergehend röthliche Färbung an; später wurde sie blau, dann grün; die Substanz giebt also die sogenannte Cholestolreaction in der gleichen Weise, wie es die meisten anderen Cholesterine thun.

Schüttelt man die chloroformische Lösung mit Schwefelsäure vom specif. Gewicht 1,76, so nimmt dieselbe bald eine

purpurrothe Färbung an; die Substanz gleicht also auch in dieser Hinsicht den anderen Cholesterinen.

Die Substanz ist optisch activ. Zur Feststellung des Drehungsvermögens diente eine chloroformische Lösung derselben, welche in 10 cbcm. 0,3450 gr. Substanz (in 100 cbcm. 3,4500 gr.) enthielt.

Diese Lösung drehte im Soleil-Ventzke'schen Apparate bei 16° C. im 200 mm.-Rohr 8,8° nach links; daraus berechnet sich

$$(\alpha)_D = -44{,}10^\circ.$$

Das Paraphytosterin scheidet sich aus alkoholischer Lösung mit Krystallwasser ab, wie es auch die anderen Cholesterine thun. In seinen Löslichkeitsverhältnissen gleicht es den anderen Cholesterinen; es ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Aether, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff und heissem Weingeist, schwer löslich in kaltem Weingeist.

Die Verbrennung der bei 100° C. getrockneten Krystalle mit Kupferoxyd in beiderseitig offenem Glasrohr gab folgende Resultate:

1 0,1538 gr. Substanz gaben 0,4720 CO_2 und 0,1630 H_2O.
2. 0,1302 gr. gaben 0,4002 CO_2 und 0,1368 H_2O.

Diese Resultate entsprechen ziemlich gut der Formel, welche man dem Cholesterin gewöhnlich giebt, d. h. der Formel $C_{26}H_{44}O$, sie passen aber noch besser auf die Formeln $C_{24}H_{40}O$ und $C_{25}H_{42}O$, wie folgende Zusammenstellung lehrt:

	Berechnet für			Gefunden:	
	$C_{24}H_{40}O$:	$C_{25}H_{42}O$:	$C_{26}H_{44}O$:	I.	II.
C	83,72	83,79	83,87	83,67	83,71 %.
H	11,62	11,72	11,83	11,76	11,67 »
O	4,66	4,48	4,30	—	—

Die Krystallwasserbestimmung hat folgendes Resultat geliefert:

0,6440 gr. lufttrockene Substanz wurde bei 100° getrocknet und gab ab 0,0322 H_2O.

	Berechnet für			Gefunden:
	$C_{24}H_{40}O + H_2O$:	$C_{25}H_{42}O + H_2O$:	$C_{26}H_{44}O + H_2O$:	
H_2O	4,97	4,78	4,61	5,00 %.

Ebenso wie bei dem Cholesterin kann auch hier die Elementaranalyse keine sichere Entscheidung über die Formel geben, da beispielsweise die Differenzen der von den Formeln $C_{26}H_{44}O$ und $C_{18}H_{42}O$ geforderten Werthe in die Fehlergrenze der Analyse fallen.

Die Benzoylverbindung des im Vorigen beschriebenen Paraphytosterins, deren Darstellung schon oben angegeben ist, krystallisirt aus Aether in dünnen, matten Prismen. Dieselben unterscheiden sich im Aussehen von allen mir bis jetzt zu Gesicht gekommenen Benzoylverbindungen anderer Cholesterine[1]).

Das Paraphytosterinbenzoat schmilzt bei 142—143° C. In Weingeist ist es sehr wenig löslich, in Aether leichter, aber immer noch ziemlich schwer. Auf Grund der im Vorigen gemachten Mittheilungen darf man das Paraphytosterin für ein Glied der Cholesteringruppe erklären. Es stimmt mit den Cholesterinen nicht nur in der Zusammensetzung überein, sondern es giebt auch sowohl die Cholestolreaction, als auch die charakteristische Färbung mit Chloroform und Schwefelsäure.

Es schien mir wünschenswerth, noch auf colorimetrischem Wege die Intensität zu bestimmen, in welcher das von mir gewonnene Product die ebengenannten Reactionen giebt. Als Vergleichsobject diente ein aus Lupinensamen dargestelltes Phytosterinpräparat. Bei Ausführung der Versuche verwerthete ich die von H. Burchard[2]) und E. Schulze[3]) gemachten Angaben. Ich löste 0,025 gr. des reinsten Paraphytosterins in Chloroform und füllte die Flüssigkeit auf 50 cbcm. auf. Eine Lösung gleicher Concentration stellte ich aus Phytosterin her. Je 2 cbcm. dieser Lösungen wurden mit je 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und je 2 Tropfen concentrirter Schwefelsäure versetzt. Die Paraphytosterinlösung gab bei dieser Behandlung etwas stärkere Grünfärbung, als die gleich con-

---

[1]) Die Benzoylverbindungen der anderen aus Pflanzensamen gewonnenen Cholesterine krystallisiren alle in kleinen Blättchen.

[2]) H. Burchard, Beiträge zur Kenntniss der Cholesterine, Inaug.-Dissert., Rostock 1889.

[3]) Zeitschr. f. physiol Chemie, Bd. 14, Heft 6.

centrirte Phytosterinlösung. Ferner schüttelte ich je 5 cbcm. Schwefelsäure vom specif. Gewicht 1,75 in kleinen, mit Stöpsel versehenen Glascylindern 5 Minuten lang durch, liess dann absetzen und beobachtete die Rothfärbung, welche die Chloroformschicht angenommen hatte. Es zeigte sich, dass auch bei dieser Reaction die Paraphytosterinlösung sich etwas stärker gefärbt hatte, als diejenige des Phytosterins; doch war der Farbenton nicht völlig der gleiche; die Phytosterinlösung zeigte reine Purpurfärbung, während die Lösung des Paraphytosterins etwas in's Bräunliche übergehende Rothfärbung zeigte.

b) Phasol.

Die Darstellung dieses Körpers und seine Trennung von Paraphytosterin habe ich oben schon beschrieben. Zur Reinigung krystallisirte ich ihn wiederholt aus Weingeist um. Einen anderen Weg zur Reinigung vermochte ich nicht aufzufinden. Die Ueberführung in die Benzoylverbindung, welche bei Lupeol, Phytosterin und Paraphytosterin so gute Dienste geleistet hat, war hier nicht von Nutzen, weil diese Verbindung sehr schlecht krystallisirte.

Das in der angegebenen Weise gereinigte Phasol zeigte folgende Eigenschaften: Es krystallisirte aus Weingeist in kleinen, zu Gruppen vereinigten Tafeln, welche kein Krystallwasser enthalten. Dieselben schmolzen bei 189—190°; sie lösen sich nicht in Wasser, ziemlich leicht in kaltem, leicht in heissem Weingeist; sie lösen sich auch in Aether, Chloroform und Benzol, in Chloroform sind sie aber schwerer löslich, als Cholesterin und Phytosterinkrystalle.

Die Krystalle gaben die Cholestolreaction und die Hesse-sche Reaction, aber weit schwächer als die Cholesterine.

Ich löste 0,025 gr. des reinsten Präparats in 50 cbcm. Chloroform. Von dieser Lösung brachte ich 2 cbcm. mit 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und 2 Tropfen concentrirter Schwefelsäure zusammen. Die Flüssigkeit nahm nach Verlauf einer halben Stunde schwach grüne Färbung an; die Färbung war sehr viel schwächer, als diejenige einer gleich concentrirten

Phytosterinlösung. Ferner schüttelte ich 5 cbcm. jener Lösung 5 Minuten lang mit dem gleichen Volumen Schwefelsäure vom specif. Gewicht 1,76 durch; die Lösung nahm eine sehr schwache Rothfärbung an.

Das Phasol ist optisch activ und zwar rechtsdrehend. Eine Lösung, welche in 10 cbcm. 0,3671 gr. Substanz oder in 100 cbcm. 3,6710 gr. enthielt, drehte im Soleil-Ventzke'schen Apparat im 200 mm.-Rohr bei 16° C. 6,5° nach rechts; daraus berechnet sich

$$(a)_D = +30{,}6^{\circ}.$$

Die Elementaranalyse lieferte folgende Resultate:

1. 0,1576 gr. bei 95° getrocknete Substanz gaben 0,4728 gr. CO_2 und 0,1586 gr. H_2O.
2. 0,1672 gr. gaben 0,5046 gr. CO_2 und 0,1626 gr. H_2O.

Diese Zahlen entsprechen ziemlich gut der Formel $C_{15}H_{24}O$, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

	Berechnet für $C_{15}H_{24}O$:	Gefunden: I.	II.
C	81,81	81,84	82,22 °/₀.
H	10,90	11,18	10,79 »
O	7,29	—	—

Das Phasol scheint demnach zu den von Hesse beschriebenen cholesterinähnlichen Körpern zu gehören, welche der Genannte als Quebrachol[1]), Cupreol[2]) und α- und β-Lactucerol[3]) bezeichnet hat, Körper, deren Formeln zwei Atome Wasserstoff mehr einschliessen, als die Formeln der entsprechenden Glieder der Cholesterinreihe.

Ob aber die von mir untersuchten Phasolpräparate völlig rein waren, ist eine Frage, welche nicht mit völliger Sicherheit bejaht werden kann. Wie aus den von mir gemachten Mittheilungen sich ergiebt, vermochte ich zur Trennung des Phasols vom Paraphytosterin keinen anderen Weg aufzufinden, als fractionirte Krystallisation. Es ist aber fraglich, ob auf

[1]) Liebig, Ann., Bd. 211, S. 272.
[2]) Ibidem, Bd. 228, S. 291.
[3]) Ibidem, Bd. 234, S. 243.

diesem Wege das Phasol völlig frei von Paraphytosterin erhalten wurde. Es ist demnach auch denkbar, dass die Phasolpräparate nur desshalb schwache Cholestolreaction, sowie schwache Hesse'sche Reaction gaben, weil sie noch eine geringe Paraphytosterinmenge einschlossen, und dass das reine Phasol diese Reaction gar nicht giebt. Ist dies der Fall, so wird auch wohl die Elementarzusammensetzung des reinen Phasols, sowie das Drehungsvermögen desselben von den von mir erhaltenen Zahlen etwas abweichen. Dass aber das Phasol ein vom .Paraphytosterin völlig verschiedener Körper ist, geht schon daraus hervor, dass sein Drehungsvermögen demjenigen des Paraphytosterins entgegengesetzt ist.

Viel weniger wahrscheinlich ist es, dass den von mir dargestellten Paraphytosterinpräparaten noch Phasol beigemengt war. Denn das letztere ist leichter löslich in Weingeist als das Paraphytosterin und kann demnach kaum Schwierigkeiten haben, diesen Körper durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Weingeist vom Phasol zu befreien.

Ausser den Samenschalen der oben genannten Leguminosen habe ich auch noch diejenigen von Lens esculenta untersucht. Als ich den Aetherextract aus diesen Schalen nach dem oben angegebenen Verfahren verarbeitete, erhielt ich eine Substanz, welche die Cholesterinreactionen gab. Dieselbe schmolz nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus Weingeist bei 120° C. Ob dieselbe ein einheiilicher Körper war oder nicht, habe ich nicht näher festgestellt.

Die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harne.

Von

John Berry Haycraft, M. D. D. Sc.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität zu Edinburgh.)

(Der Redaction zugegangen am 15. März 1891.)

Vor einigen Jahren veröffentlichte ich eine Abhandlung über eine Methode für die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn[1]), welche ich aufgestellt hatte. Eine Uebersetzung erschien später in der Zeitschrift für analytische Chemie, Band 25 (1886) und finde ich meine Methode jetzt in vielen Werken über Analyse (klinische und andere), wie Sutton's Volumetric Analysis, Neubauer und Vogel etc. etc. ausgeführt.

Meine Arbeit ist in jüngster Zeit von Salkowski kritisirt worden, während Hermann sich in löblicher Weise darüber ausspricht, haben Huppert und Czapek eine Modification eingeführt und schliesslich Camerer findet, dass die Resultate, welche meine Methode ergiebt, übereinstimmen mit denen, welche durch eine jüngst von ihm gefundene Methode erzielte.

Genügend Beweismaterial ist jetzt wohl geschaffen, dass wir in der Lage sind, nunmehr ein Urtheil über den Werth meiner Methode treffen zu können, und erlaube ich mir, dieses Material meinen werthen Lesern vorzulegen. Es ist mir sehr darum zu thun, dass meine Methode sich als vsrtrauenswürdig gewesen zu sein herausstelle, namentlich um derer willen, welche dieselbe für ihre eigene physiologische und klinische Arbeit benutzten, auf die Zuverlässigkeit derselben rechnend; doch will ich mich bestreiben, meine Sache in möglichst vor-

---

[1]) Dr. John Berry Haycraft, Bts. Med. Journal, Dec. 12d, 1885.

urtheilsfreier Weise darzustellen, denn ich erkenne wohl, dass ein todter Zweig den Baum schwächt.

Meine Methode besteht in der Versetzung des Harnes mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaction, Fällung der Harnsäure mit ammoniakalischer Silbernitratlösung und Bestimmung des Silbers in dem Niederschlage mittelst eines sehr genauen Verfahrens, vor Kurzem durch Volhard eingeführt.

Natürlich wenn der Niederschlag aus harnsaurem Silber oder einem Doppelsalze besteht, in welchem Silber mit Harnsäure in constanter Proportion verbunden ist, dann ist es leicht, die Harnsäure zu berechnen von der Quantität des Silbers, welches gefunden wird. Ich fand, dass der Niederschlag von Silber und Harnsäure in dem Verhältniss von 108 Silber zu 168 Harnsäure steht; in anderen Worten ein Atom des Silbers zu dem Moleküle der Harnsäure.

Nun muss ich sofort bemerken, dass meine Methode auf Grund dieser Thatsache hin von Salkowski angegriffen ist, welcher behauptet, dass Silber und Harnsäure sich nicht in constanten Proportionen vereinigen und dass meine Methode daher unanwendbar sei. Dies denn ist die Frage, welche wir zu entscheiden haben: Verbindet sich Silber mit Harnsäure in constanter Proportion, oder nicht?

Meine eigenen Resultate wurden erzielt bei Lösung bestimmter Quantitäten reinen harnsauren Natriums (sage 0,05 gr.) in solche Flüssigkeiten, welche die Salze enthalten, die auch im Harne gefunden werden. Nach Hinzufügung von Silbernitrat bestimmte ich das Silber in dem Niederschlage (von harnsaurem Silber) und fand, dass die Quantität der Harnsäure, welche bekannt war, zu Silber in dem Verhältnisse von 168 zu 108 stand.

Ich versuchte nun meine Methode mit Harn selbst, verglich aber dieselbe für die quantitative Bestimmung der Harnsäure mit keiner anderen. Der Grund hierfür lag in der Thatsache, dass zur Zeit keine Methode existirte, welche ich als Maassstab betrachten konnte, denn die Salkowski'sche, damals für die meist correcte gehalten, war niemals anders als neben der incorrecten Methode von Heintz geprüft.

Salkowski fand mehr Harnsäure als Heintz, doch ob er alle Harnsäure im Harne gefunden hatte, war noch eine offene Frage.

Mein einziger Plan desshalb wäre gewesen, Salkowski's Methode mit reinen Salzen zu prüfen und dann die meinige damit zu vergleichen. Wie die Sache aber stand, zog ich natürlich vor, meine eigene Methode mit der chemischen Waage zu prüfen, welches meinem Dafürhalten nach auch jetzt noch das einzige Mittel für sorgfältige Arbeit bildet.

Ich nahm eine Probe Harn und theilte diese in zwei Theile, zu dem einen (a) fügte ich 50 cbcm. Wasser, während ich zu dem anderen 50 cbcm. harnsaures Natrium von bekannter Stärke hinzufügte. Ich berechnete die Harnsäure in (a) und (b) und fand mit dem Verlust von weniger als 2 Milligramm einen Unterschied, der hinzugefügten Quantität von Harnsäure entsprechend.

Ich muss bemerken, dass ich in diesen Berechnungen von der Annahme ausging, dass die Harnsäure mit dem Silber in dem Verhältniss von 168 zu 108 verbunden ist und dies natürlich in constanter Proportion.

Während ich mit dieser Arbeit beschäftigt war, verbesserte Ludwig die Salkowski'sche Methode in einigen Einzelheiten und veröffentlichte seine Resultate in den Wiener Medicinischen Jahrbüchern für 1884.

Seine Methode bleibt immer noch sehr mühsam, aber er behauptet, dass damit nur 2 % der Harnsäure verloren gehen. Dr. Hermann[1]) (Seite 500) stellte Versuche mit meiner Methode an, reine Harnsäure anwendend, und fand, dass die Resultate innerhalb 2 % correct waren; er verglich meine Methode mit der Ludwig'schen, indem er annahm, dass diese ebenfalls zuverlässig sei. Hermann analysirte 19 Harnproben (man beachte, dass keine von diesen viel Harnsäure enthielt) und in jedem Falle war das Resultat, welches er angiebt, der Durchschnitt zweier Analysen. Ich gebe seine Tabelle hier.

---

[1]) A. Hermann, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 12, S. 496.

Tabelle von Hermann.

No.	a) Haycraft.	b) Ludwig.	Differenz von a und b in mgr.
1	,0223	,0203	— 2
2	,0238	,0210	— 2,8
3	,0302	,0273	— 2,9
4	,0292	,0286	— 0,6
5	,0320	,0297	— 2,3
6	,0335	,0309	— 2,6
7	,0336	,0313	- 2,3
8	,0328	,0314	— 1,4
9	,0350	,0316	— 3,4
10	,0345	,0332	— 1,3
11	,0347	,0334	— 1,3
12	,0369	,0340	— 2,9
13	,0415	,0376	— 3,9
14	,0416	,0383	— 3,3
15	,0432	,0391	— 4,1
16	,0460	,0401	— 5,9
17	,0445	,0403	— 4,2
18	,0443	,0406	— 3,7
19	,0462	,0428	— 3,4
		Deficit	= — 2,8

Hermann schliesst, indem er die Meinung ausspricht, dass der kleine Ueberschuss (2,8 Milligr.), bei meiner Methode erhalten, wenn verglichen mit der von Ludwig, durch das Vorhandensein von Xanthin bedingt sei, welches mit der Harnsäure durch das Silber niedergeschlagen sei und so das Resultat erhöhe; er bestätigt vollständig meine Beobachtung über das Gleichbleiben der Verbindung von Harnsäure und Silber.

Czapek[1]) auf Vorschlag von Prof. Huppert veränderte meine Methode, das Verfahren etwas kürzend, doch scheint es, dass, obgleich seine Resultate sehr ähnlich, sie doch nicht ganz so befriedigend als die meinigen sind.

Camerer, welcher Czapek's Verfahren prüfte und dessen Resultate bestätigte, sagt[2]) (Seite 98): «Diese Un-

[1]) Czapek, J., Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 12, S. 502.
[2]) W. Camerer, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 27, S. 113.

sicherheit liegt in der Methode und habe ich bei Anwendung derselben Aehnliches gefunden; ich verstehe daher nicht, wie Czapek diese Methode empfehlen kann. Will man überhaupt Silber titriren, so ist Haycraft entschieden vorzuziehen.»

Doch muss ich daran erinnern, dass Czapek keine Doppelanalysen vornahm, wie Hermann es that, und mag dies wohl die kleinen Abweichungen seiner Methode erklären. Ich lasse Czapek's Tabelle folgen und wird man bemerken, dass die vier letzten Bestimmungen von concentrirtem Harne sind und meist von Fieberkranken herrühren. Diese bilden eine Ausnahme von den anderen und ich ziehe vor, diese am Ende dieser Abhandlung besonders zu besprechen.

Tabelle von Czapek.

No.	a) Czapek.	b) Ludwig.	Differenz.	Differenz in % Ludwig = 100.
1	,0092	,0071	— 2,1	29,6
2	,0155	,0188	+ 3,3	—
3	,0185	,0162	— 2,3	14,2
4	,0188	,0152	— 3,6	23,6
5	,0217	,0222	+ 0,5	—
6	,0352	,0314	— 3,8	12,1
7	,0379	,0332	— 4,7	14,2
8	,0385	,0369	— 1,6	4,3
9	,0402	,0408	+ 0,6	—
10	,0421	,0378	— 4,3	11,4
11	,0452	,0410	— 4,2	10,2
12	,0483	,0442	— 4,1	9,3
13	,0518	,0454	— 6,4	14,1
14	,1090	,0920	— 17,8	19,3
15	,1162	,1124	— 3,8	3,4
16	,1222	,1093	— 12,9	11,8
17	,1264	,1033	— 23,1	22,4

Wenn die letzten vier Analysen vorläufig unberücksichtigt bleiben, so finden wir, dass die übrigen ein Deficit von 2,5 Milligr. mit Ludwig's Methode ergeben oder praktisch gleiche Resultate zeigen wie die, welche Hermann erzielte. Czapek arbeitete ebenfalls mit gewogenen Quantitäten reiner

Harnsäure und prüfte sowohl Ludwig's, als auch seine Veränderung meiner Methode, mit beiden gleiche Genauigkeit erzielend. Er schliesst, dass meine Methode verantwortlich sei für die Differenz, welche beobachtet wird bei der Bestimmung von Harnsäure im Harne, und erklärt dies, indem er annimmt, dass Spuren von Xanthin und anderer unbekannten Substanzen sich gleichfalls mit dem Silber verbinden, so einen kleinen Ueberschuss ergebend.

Bevor ich weiter gehe, gestatte ich mir, eine oder zwei Bemerkungen zu machen über einen Punkt für diese Abhandlung von wesentlicher Bedeutung; nämlich welcher Werth auf eine Differenz von 3—4 Milligr. bei dem Vergleiche zweier Methoden mit einander gelegt werden kann. Es ist klar, dass bei jeder chemischen Manipulation Arbeitsfehler, wie gering sie auch sind, vorhanden sind, welche das Erzielen eines absolut richtigen Resultates verhindern. Diese Fehler schwanken mit dem Verfahren selbst und auch mit der Persönlichkeit des Chemikers. Weder Hermann noch Czapek veröffentlichen die Details der Doppelbestimmungen, aber Salkowski und Jolin geben diese an.

Sehen wir denn, welches ihre Arbeitsfehler sind, indem wir Salkowski's eigene Methode nehmen, welche er als Maassstab (Standard) ansieht und mit welcher er meine Methode prüft. Prof. Jolin[1]) (Seite 44 und 45) führt drei Analysen an, No. 3, 5 und 7, in welchen Doppelbestimmungen desselben Harnes mittelst derselben Methode (Salkowski's) gemacht wurden. Diese waren von einander verschieden und betrugen die respectiven Differenzen 0,6, 3,7 und 1,3 Milligr.; während Salkowski selbst eine Doppelbestimmung No. 9 vornahm, welche eine Differenz von 1,8 Milligr. per 100 cbcm. Harn ergab. Es ist daher klar, dass, wenn diese beiden Chemiker ihre Resultate nicht genau innerhalb 3—4 Milligrammen erzielen konnten, obgleich sie mit demselben Harne arbeiteten und dieselbe Methode anwandten, wir dann in allen Fällen Rücksicht auf Arbeitsfehler nehmen müssen, und

[1]) Dr. E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 31.

werden diese grösser sein, wenn Analysen verglichen werden, welche an verschiedenen Tagen mit verschiedenem Harne und mit verschiedenen Methoden gemacht wurden.

Man sieht daher, dass die etwas schwankenden Resultate von Czapek viel an Bedeutung verlieren, denn dieselben sind fast grösser, als man seinen Arbeitsfehlern zuschreiben muss. Auch das Durchschnitts-Plus von 2,5 Milligr. stellt eine niedrigere Quantität dar, als man im ersten Augenblick glauben möchte.

Ein anderer Punkt ist der, dass, wenn eine Differenz zwischen zwei Bestimmungen, ausgeführt entweder mit derselben oder mit zwei verschiedenen Methoden, vorhanden ist, sage eine Differenz von 5 Milligr., so bildet dies einen enormen Procentsatz, wenn die Total-Quantität gering ist, hingegen wird der Verlust nur einen kleinen Procentsatz bilden, falls die Total-Quantität beträchtlich grösser ist. Da nun aber Harnsäure so sehr unlöslich ist, haben wir niemals eine grosse Quantität derselben, und der Verlust oder Gewinn von wenigen Milligrammen, durch Arbeitsfehler bedingt, mag im Procentsatz ausgedrückt eine hohe Zahl vorstellen, besonders dann, wenn die Harnsäure nur in geringer Quantität vorhanden ist. Dies scheint nun wohl ganz klar; nichtsdestoweniger aber ist diese Thatsache ganz und gar übersehen worden bei Salkowski und Jolin, wie wir später sehen werden. Des Weiteren ist Czapek's Methode in England verworfen worden, da die Anwendung derselben leicht zu grossen Fehlern Veranlassung giebt. Ein Kritiker spricht sich in dem «British Medical Journal» vor ungefähr einem Jahre in folgenden scharfen Worten darüber aus. Er sagt, «Czapek's Methode besitze eine verdammende Einwendung, nämlich dass ihre Irrthümer 30 Procent betragen». Der Fall, auf welchen er sich beruft, ist Analyse 1, in welcher 9,2 Milligr. mit der Czapek'schen und 7,1 mit der Ludwig'schen Methode gefunden wurden; die Differenz von 2,1 Milligr. beläuft sich auf 29,6 Procent. Dies, wenn in Procentsatz ausgedrückt, ist ohne Zweifel sehr hoch, da die ganze Quantität äusserst gering war, und dennoch bleibt die Thatsache be-

stehen, dass die Differenz 2,1 Milligr. betrug zwischen den beiden genannten Methoden, eine Differenz aber, welche Salkowski und Jolin finden würden in Doppelbestimmungen, mit ein und derselben Methode ausgeführt.

Wenn wir uns nun den Tabellen von Hermann und Czapek zuwenden, so werden wir finden, dass (die concentrirten Harne ausgeschlossen) die Quantität Harnsäure bei der Silbermethode berechnet, so annähernd als möglich dieselbe ist, als die Quantität der Harnsäure bei der Ludwig-schen Methode erzielt, und nur so wenig höher, dass die Differenz bei 3 Milligr. ausgedrückt werden kann.

Diese 33 Bestimmungen zeigen daher, dass eine constante Proportion zwischen Harnsäure und Silber im Niederschlage besteht und dass diese Substanzen in dem Verhältniss vorhanden sind, auf welches die Bestimmungen begründet sind, nämlich 168 zu 108.

Vor Kurzem hat Camerer eine neue Methode für die quantitative Bestimmung von Harnsäure vorgeschlagen. Diese scheint in vielen Hinsichten zufriedenstellend. Er nimmt den Niederschlag, welcher durch Versetzung des Harnes mit Silbernitrat entsteht, und statt die Harnsäure bei Auskrystallisirung zu bestimmen, wie es Salkowski und Ludwig thun, findet er die Quantität derselben bei Bestimmung des Stickstoffes und berechnet die Harnsäure nach letzterem. Camerer prüfte seine Methode zuerst mit gewogenen Quantitäten reiner Harnsäure und fand, dass er dieselbe bis auf 3 Milligr. per 240 cbcm. der Lösung zurück erhielt. Sodann prüfte er Salkowski's Methode in derselben Weise und fand, dass der Verlust im Durchschnitt 10,8 Milligr. per 200 cbcm. der Lösung, bald weniger, 5,7, und bald mehr, 18,7, betrug; weiter citirt er Maly, welcher 493,4 Milligr. Harnsäure auflöste, von welcher er 456 Milligr. mit der Heintz'schen und 27 Milligr. mehr, d. i. 483 Milligr., mit der Salkowski'schen Methode zurück erhielt, eine Differenz (Verlust) von 10,4 zurücklassend. Wir mögen daher den Schluss ziehen, dass selbst mit reinen Salzen man einige Milligramm bei Anwendung der Salkowski'schen Methode verliert.

Nachdem Camerer mit reiner Harnsäure experimentirt hatte, wendete er seine Aufmerksamkeit dem Harne selbst zu und bestimmte die Harnsäure mit seiner eigenen und auch mit der Salkowski'schen Methode mit dem Resultate, dass die letztere eine Differenz ergab, grösser noch, als durch die Anwendung derselben mit reinen Salzen erfolgen muss. Er folgert, dass dieser Ueberschuss durch Xanthin-Verbindungen, in kleinen Quantitäten anwesend, bedingt sei. Seine Resultate bestätigen daher die von Hermann und Czapek.

Nicht zufrieden mit der Salkowski'schen Methode, welche er als nicht ganz zuverlässig bezeichnet[1]) (Seite 155), vergleicht er nun seine Methode mit der Ludwig'schen. Auch mit dieser ist er nicht ganz zufrieden, und statt die Krystalle zu wägen, bestimmt er deren Stickstoff und berechnet darnach die in ihnen enthaltene Harnsäure.

Seine Resultate sind in der folgenden Tabelle angegeben und bestehen aus 16 Analysen; in jedem Falle ist die Harnsäure nach der Ludwig'schen Methode (bei ihm modificirt) und auch von dem ganzen Stickstoff des Silber-Niederschlages berechnet.

No.	Camerer.	Ludwig.	Differenz.
1	,0156	,0148	,8
2	,0177	,0164	1,3
3	,0216	,0188	2,8
4	,0220	,0187	3,3
5	,0236	,0210	2,6
6	,0252	,0224	2,8
7	,0257	,0220	3,7
8	,0269	,0237	3,2
9	,0269	,0224	4,5
10	,027	,0246	2,4
11	,0279	,0252	2,7
12	,0288	,0260	2,8
13	,0289	,0275	1,4
14	,0291	,0259	3,2
15	,0303	,0255	4,8
16	,0307	,0268	3,9

[1]) W. Camerer, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 27, S. 113.

Er findet, dass die Ludwig'sche Methode einen Durchschnitts-Verlust von 2,9 Milligr. ergiebt, und wir werden sehen, wie vollständig seine Resultate mit denen von Hermann und Czapek übereinstimmen.

Wir können nun die Aussagen von Hermann, Czapek und Camerer in dem folgenden Satze zusammenfassen: Im normalen Harn bewirkt die Versetzung mit Silbernitrat den Niederschlag der Harnsäure in der Form eines Salzes. In dem Niederschlag ist ein geringer Ueberschuss von Silber, etwa 3 Milligr., über die Quantität der Harnsäure vorhanden. (Berechnung 108 Theile Silber zu 168 Theile Harnsäure.) Dieser Ueberschuss ist sehr beständig und glauben Hermann und Czapek, dass er durch Xanthin und möglicherweise noch durch andere Substanzen, welche sich ebenfalls mit dem Silber verbinden, entsteht. Camerer bestätigt dies; er findet, dass die Differenz (das Stickstoff-Aequivalent von 2,9 Milligr. Harnsäure) zwischen Stickstoff in dem Silber-Niederschlage und Stickstoff der Harnsäure im Silber-Niederschlage genau dem Ueberschuss des Silbers in dem Niederschlage entspricht.

Wir müssen nun die Kritik von Salkowski näher betrachten. Diese Kritik besteht in der Behauptung, dass Harnsäure und Silber sich nicht in constanter Proportion verbinden, welche Aussage er durch eine Reihe von ihm und Prof. Jolin gemachter Analysen zu unterstützen sucht.

In 1871, lange bevor ich meine Methode veröffentlichte, behauptete Prof. Salkowski[1]), dass Harnsäure und Silber sich nicht in gleichbleibenden Proportionen verbinden, und er bestätigt diese Behauptung wieder in 1872[2]).

Als ich in 1885 fand, dass er im Irrthum war, bemühte ich mich, dies durch eine während seiner Analysen stattgehabte Reduction von Silber zu erklären. In seiner ersten Arbeit sagt er, dass diese stattfinde, und drückt sich[1]) (Seite 61) in folgender Weise aus: «Bei alledem findet man

---

[1]) Dr. E. Salkowski, Virchow's Archiv, Bd. 52, S. 58.

[2]) Dr. E. Salkowski, Archiv f. d. Physiologie, Bd. V, S. 210.

auch auf diesem Wege sicher nicht die Harnsäure, denn — — ist eine geringe Reduction von Silberoxyd zu Silber im Niederschlage auf Kosten der Harnsäure nicht zu vermeiden.»

Doch bemerkt er später, dass sie vermieden sei. Diese letztere Notiz habe ich leider durch Unvorsichtigkeit übersehen und muss ich hierüber mein ernstes Bedauern ausdrücken.

Betrachten wir indess etwas näher das Material, welches Prof. Salkowski für die Beweisführung seiner kühnen Behauptung, dass das Silber in keinem constanten Verhältnisse zu der Harnsäure stehe, liefert. In 1885 nahm ich an, dass seine Tabellen dies beweisen. Ist dies nun wirklich der Fall?

Ich habe mir die Freiheit genommen, Prof. Salkowski's Analysen[1]) (Seite 22) in einige Ordnung zu bringen, mit dem harnsäureschwachen Harne beginnend und endigend mit dem Harne, welcher mehr Harnsäure enthält. Ich habe gleichfalls das Maass in der Aufstellung der Tabelle auf 100 cbcm. reducirt; dies um Gleichförmigkeit zu bewahren. Die zweite Reihe habe ich hinzugefügt, sie giebt das Harnsäure-Aequivalent des Silbers und ihre Zahlen verhalten sich zu denen der ersten Reihe wie 168 zu 108. Die vierte Reihe habe ich ebenfalls hinzugefügt, sie giebt die Differenz in Milligramm zwischen Harnsäure, wirklich erzielt, und Harnsäure dem Silber nach berechnet.

Reihe 5 ist von Salkowski und zeigt das äquivalente Verhältniss, zwischen dem Silber und der Harnsäure gefunden.

Tabelle von Salkowski.

No.	1. Ag erhalten.	2. Harnsäure berechnet aus 1.	3. Harnsäure erhalten.	4. Differenz.	5. Verhältniss zwischen Ag und Harnsäure.
1	,029	,045	,033	— 12	4,1 : 3
2	,035	,054	,040	— 14	4,09 : 3
3	,037	,057	,042	— 15	4,2 : 3
4	,045	,070	,056	— 14	3,71 : 3
5	,046	,071	,051	— 20	4,03 : 3
6	,049	,077	,056	— 21	4,02 : 3

[1]) Dr. E. Salkowski, Archiv f. d. Physiologie, Bd. V, S. 210.

No.	1. Ag erhalten.	2. Harnsäure berechnet aus 1.	3. Harnsäure erhalten.	4. Differenz.	5. Verhältniss zwischen Ag und Harnsäure.
7	,050	,078	,067	— 11	3,43 : 3
8	,051	,079	,100 !	+ 21	2,24 : 3
9	,054	,084	,070	— 14	3,36 : 3
10	,060	,094	,083	— 11	3,63 : 3
11	,064	,100	,088	— 12	3,41 : 3
12	,073	,114	,086	— 28 !	3,96 : 3.

Ich möchte vorschlagen, dass No. 8 aus dieser Tabelle fortgelassen werde. Sie bildet eine so deutliche Ausnahme von allen anderen und sind in keiner der späteren Analysen von Hermann, Czapek oder Salkowski ähnliche Resultate erzielt worden, so dass es den Anschein hat, als liege hier eine missglückte Analyse vor.

No. 12 fällt wahrscheinlich unter die Abtheilung von Harnen, welche sehr viel Harnsäure enthalten und welche wir schon in Czapek's Tabelle angetroffen haben. Ich werde diese weiterhin behandeln.

Nachdem nun Salkowski's Resultate ordnungsgemäss aufgestellt sind, sehen wir auch sofort, in welche Irrthümer er gefallen. Beim ersten Blick schon auf Reihe 4 lässt sich eine constante Differenz zwischen der erhaltenen Harnsäure und dem Silber vermuthen. Die Differenz ist ohngefähr 14 Milligr. und ist so annähernd constant, als etwas hohe Manipulationsfehler dies zulassen werden. Ein Verlust von 14 Milligr. repräsentirt einen verhältnissmässig viel grösseren Verlust, wenn der Harn nur wenig Harnsäure enthält, als wenn der Harn, wie am Fusse der Tabelle, mehr Harnsäure enthält. Daher ist die Quantität der Harnsäure, welche Salkowski in dem schwächeren Harne fand, kleiner im Verhältniss zum Silber, als in dem stärkeren Harn. Da Salkowski seine Resultate nicht ordnungsgemäss aufgestellt hatte, so bemerkte er dies nicht, doch ein Blick auf Reihe 5 meiner Anordnung seiner Tabelle zeigt dies deutlich. Der Werth des Silbers ist hier hoch im Verhältniss zur Harnsäure

in den ersten 6 Proben schwächeren Harnes, einfach desshalb, weil der Verlust von 14 Milligr. Harnsäure hoch war im Verhältniss zu der vorhandenen Säure. Sobald die Quantität der vorhandenen Säure zunimmt, ist der Verlust weniger auffallend und hört das Silber auf, in solchem überwiegenden Verhältnisse gefunden zu werden.

Salkowski's Tabelle beweist daher nicht den Punkt, von welchem er sich vorstellt, dass sie ihn beweise; vielmehr zeigt sie an, dass eine sehr constante Differenz zwischen den Resultaten der beiden Methoden besteht, entweder giebt das Silber ein zu hohes, oder seine Methode ein zu niedriges Resultat, oder aber sind vielleicht beide diese constanten Bedingungen wirksam. In diesem Falle dürfen wir annehmen, und zwar aus dieser Tabelle selbst, dass das Silber und die Harnsäure sich in bestimmtem und constantem Verhältniss verbinden.

In 1889 beantwortet Prof. Salkowski meine Kritik und stellt meine Methode und auch die Arbeiten von Hermann und Czapek in Frage. Er folgert, dass, wenn ich mit meiner Methode praktisch eine Quantität Silber erhalte, welche der vorhandenen Harnsäure entsprechen würde, ich dann meinen Niederschlag nicht genügend gewaschen hätte, um es von Chloriden zu reinigen, welche bei Lösung in Salpetersäure unlösliche Silbersalze bilden würden und so das Silber (wirklich in Ueberschuss) auf die Zahl, welche ich erhielt, sich reduciren würde. Auf diese Weise erklärt Salkowski auch Hermann's Resultate.

Dies ist indess ein sehr unglückliches Argument, denn die sehr natürliche Antwort wirft sich uns sofort auf, dass, wenn die Niederschläge nicht sehr sorgfältig gewaschen worden wären, übereinstimmende Resultate überhaupt unmöglich gewesen wären. Nicht zwei Harnproben besitzen einen gleichen Gehalt von Chloriden, keine zwei Analysen hätten daher gleichmässige Resultate ergeben können und würde der Irrthum sofort entdeckt worden sein, namentlich in Hermann's Arbeit, welcher doppelte Analysen vornahm und welcher erklärt, dass mit Ausnahme zweier Fälle, in welchen die Doppelbestimmungen wegen zu starker Saugung beim Filtriren

missglückten, die Resultate der Doppelbestimmungen absolut gleich ausfielen (fielen die Doppelbestimmungen nach Haycraft's Methode absolut gleich aus. Seite 499).

In der Stellung, welche Salkowski einnimmt, indem er glaubt, dass seine früheren Resultate den Beweis liefern, dass das Silber nicht in einem constanten Verhältnisse zur Harnsäure stehe, sucht er unsere Resultate auf die Weise zu erklären, dass uns ein gewisser Theil des Silbers verloren gegangen sei. Um aber seiner Sache gewiss zu sein, wiederholt er seine früheren Experimente, die Harnsäure wie früher direct und das Silber nach meiner Methode bestimmend; ersucht dann auch seinen Collegen Prof. Jolin, seine Resultate einer Controlle durch andere von Letzterem ausgeführte Analysen zu unterziehen. Eine Tabelle dieser Analysen ist von Salkowski aufgestellt worden und will ich von dieser einen Auszug der Analysen machen, welche Salkowski selbst ausgeführt hat (Jolin's Analysen sind ähnlich), und sie wieder der Reihenfolge nach, dem Gehalt an Harnsäure entsprechend, ordnen. Im Vorübergehen sei es mir gestattet, darauf aufmerksam zu machen, dass in der Salkowski'schen Tabelle (Seite 45) nicht weniger als vier von den elf Analysen ungenau aus dem Text in die Tabelle übertragen sind, nämlich No. 1, 7, 8 und 11. Diese Irrthümer dürften die Resultate kaum beeinflussen.

No.	Harnsäure aus Ag-Niederschlag berechnet.	Harnsäure direct erhalten.	Differenz.
1	,0431	,0336	— 9,5
2	,0445	,0336	— 10,9
3	,0490	,0357	— 13,3
4	,0514	,0396	— 11,8
5	,0530	,0396	— 13,4
			— 11,7

Prof. Salkowski nimmt an, dass diese Resultate seine frühere Behauptung bestätigen, indem sie den Beweis liefern,

dass sich das Silber und die Harnsäure nicht in constanten Proportionen verbinden. In Wirklichkeit aber giebt er uns einfach weiteres Beweismaterial für die Thatsache, dass wir, so annähernd als Manipulations-Irrthümer es zulassen können, es mit einem constanten Verluste von 12 Milligr. zu thun haben. In dem einzigen Falle (Analyse 9 im Original), in welchem er Doppelbestimmungen mit seiner eigenen Methode vornahm, betrug der Verlust 2 Milligr.

Aber vielleicht der treffendste Beweis, welchen uns Salkowski's Abhandlung liefert für die Wahrheit, welche er darin zu bekämpfen sucht, findet sich in den letzten zwei Seiten 50 und 51 seiner Arbeit. Er beschreibt eine Weise, auf welche man den Gehalt von Harnsäure und von Silber in einer und derselben Quantität Silberniederschlag gleichzeitig bestimmen kann, und giebt die Resultate zweier Bestimmungen, auf diese Weise vorgenommen.

Ich gebe diese Bestimmungen hier in Form einer Tabelle.

No.	Harnsäure aus Ag berechnet.	Harnsäure direct gefällt.	Differenz.	Verhältniss zwischen Ag und Harnsäure.
1	,0756	,0556	19,1	3,99 : 3
2	,0938	,0757	18,1	3,66 : 3

Salkowski sagt: «Das Aequivalentverhältniss zwischen Harnsäure und Silber berechnet sich

aus Versuch I = 3 : 3,66,
aus Versuch II = 3 : 3,99.

Auch diese Bestimmungen bestätigen also lediglich meine früheren Angaben.»

Wir haben hier wieder die zutreffende Thatsache, dass ein constantes Deficit von 18 bis 19 Milligr. vorhanden ist (133 cbcm. Harn wurden gebraucht, nicht 100 cbcm., daher ist das Deficit grösser) und dieses Deficit bildet natürlich eine grössere Proportion des Ganzen in dem schwachen als in dem stärkeren Harne.

Die Resultate der werthvollen Analysen von Salkowski zeigen daher, dass eine annähernd constante Differenz von 13 Milligr. per 100 cbcm. Harn zwischen unseren Methoden besteht, die Differenz kann aber nur constant sein, wenn vorausgesetzt wird, dass das Silber sich mit der Harnsäure in constanten Verhältnissen verbindet, und müssen wir uns nun die Frage stellen, ob der Irrthum ihm oder mir oder uns Beiden zur Last gelegt werden muss.

Zunächst muss ich darauf autmerksam machen, dass Salkowski es für ausgemacht ansah, dass seine Methode richtig sei, und deren Genauigkeit nicht einmal zu prüfen versuchte. Heintz hat schon vor geraumer Zeit die Harnsäure aus dem Harn mittelst einer Säure niedergeschlagen. Weil es nun aber Salkowski gelang, einige Milligramme mehr mit seiner Methode als mit der Heintz'schen Methode zu erhalten, so nahm er es als ausgemacht an, dass er die sämmtliche anwesende Säure erhalten habe. Diese unbewiesene Thatsache hat Salkowski nun für seinen Beweis benutzt und würde es sehr viel besser gewesen sein, wenn er seine Methode mit gewogenen Quantitäten reiner Harnsäure geprüft hätte, ehe er zur Aufnahme dieser Streitfrage schritt.

Wir wissen jetzt, dass Salkowski's Methode ein Deficit ergiebt, welches nach Camerer ohngefähr 5,4 Milligr. per 100 cbcm., selbst wenn bei Anwendung reiner Salze geprüft, beträgt, und dass das Deficit sich erhöht bei Anwendung von Harn.

Wir sehen daher, dass mit Verbesserung Salkowski's Methode sich so gestalten könnte, dass dieselbe Resultate liefert, welche mit den meinigen übereinstimmen, und würde diese dann wohl annähernd das Richtige treffen.

Ich glaube die Sache in folgender Weise hinstellen zu dürfen:

1. Salkowski hat sein eigenes Beweismaterial unrichtig erklärt, da es zusammen mit demjenigen von Hermann, Czapek und Camerer den Beweis liefert, dass das Silber in dem in Rede stehenden Niederschlage zu der Harnsäure

in dem Verhältniss von 108 zu 168 steht, und würde der einzige Einwurf gegen meine Methode hinfällig.

2. Wenn meine Methode mit der von Salkowski verglichen wird, so besteht eine constante Differenz zu meinen Gunsten, und wenn meine Methode mit der von Ludwig verglichen wird, welche anerkannt besser ist als die von Salkowski, dann ist diese Differenz auf 3 Milligr. herabgesetzt.

Es ist daher sicher, dass die Silber-Methode nicht nur allein im Stande ist, genaue relative Resultate zu liefern, sondern dass dieselben auch dem wirklichen Gehalte sehr nahe kommen. Sowohl Hermann als Czapek schliessen, dass die Differenz der 3 Milligr. zwischen Hermann's und meiner Methode von einem Ueberschuss mit meiner Methode bedingt sei, und Camerer's Resultate lassen vermuthen, dass er derselben Ansicht ist.

Da die Silber-Methode für alle praktische Zwecke genau genug ist, so würde es streitsüchtig scheinen, wenn ich diese Differenz noch weiter besprechen wollte, doch soll es mich nicht wundern, wenn die kurze und genaue Silber-Bestimmung auch hier noch der Maassstab zu sein sich herausstellte, bei welchem die längere und jedenfalls von technischen Einwürfen nicht freie Methode von Ludwig geprüft werden muss.

Ein Punkt besteht immerhin noch, der unbedingt eine offene Frage bildet, und das ist die Weise, in welcher sich die Harne mit grossen Quantitäten von Harnsäure benehmen. Czapek bestimmte einige solcher und Salkowski führt einen solchen Fall an. Wenn mehr als 70 Milligr. Harnsäure in 100 cbcm. vorhanden sind, so geben die Silber- und die directe Methode weit von einander verschiedene Resultate. Dieser Gegenstand bedarf weiterer Nachforschung, und der erste Punkt, welcher aufgeklärt werden muss, ist die Frage, ob genaue Resultate bei Zusatz von Wasser zu dem Harne (sage 1 Vol.) folgen würden. Da aber genügendes Beweismaterial hierfür bis jetzt noch fehlt, würde die weitere Besprechung dieses Gegenstandes vorläufig nutzlos sein.

Zum Schlusse fühle ich mich, wenngleich sehr unwillig, gezwungen, auf eine Arbeit von Mr. A. M. Gossage[1]), welche in den Abhandlungen (Proceedings Royal Society) der Royal Society veröffentlicht wurde, Bezug zu nehmen. In dieser Arbeit sind die Resultate von fünf Harn-Analysen gegeben. Die Bestimmungen der Harnsäure sind sowohl mit der Salkowski'schen, als auch mit meiner Methode ausgeführt.

Tabelle von Mr. A. M. Gossage.

No.	Haycraft.	Salkowski.	Differenz.
1	,072	,035	— 37
2	,076	,035	— 41
3	,082	,051	— 31
4	,108	,080	— 28
5	,108	,084	— 24
			— 32

Mr. Gossage schliesst mit der Bemerkung, dass seine Resultate mit Salkowski's Beobachtungen übereinstimmen und dass dieselben den Beweis liefern, dass das Silber in einem höheren Verhältniss vorhanden ist, als ich angenommen habe, und dass das Verhältniss nicht constant sei. Ich fürchte indess, dass seine Resultate anders erklärt werden müssen, denn sie zeigen eine Mitteldifferenz zwischen den beiden Methoden von nicht weniger als 32 Milligr. Salkowski und Jolin veröffentlichten 25 Analysen, in welchen die Harnsäure durch die Silber- und auch die Salkowski'sche Methode bestimmt wurde, und niemals selbst in den äussersten Fällen erzielten sie eine Differenz, welche der Mitteldifferenz von Gossage gleichkommt. Ein Blick auf die obige Tabelle und auf die damit genau vergleichbaren Tabellen von Salkowski, in dieser Abhandlung besprochen, lassen wohl kaum einen Zweifel bestehen, dass, wenn die Resultate von Salkowski und Jolin nur einigermassen richtig sind, die Analysen von Gossage als durchaus unrichtig angesehen werden müssen.

[1]) Mr. A. M. Gossage, Proc. Roy. Soc. London, Vol. 44, p. 284.

Die Frage nur ist, ob Gossage ungenaue Resultate mit nur einer oder mit beiden Methoden erhielt. Die Quantität des Silbers ist im Durchschnitt viel grösser, als die von irgend einem der anderen Autoren erzielte, und lässt im ersten Augenblick vermuthen, dass seine Silberbestimmungen ungenau waren. Dies mag nun wohl der Fall sein, doch seine Doppelbestimmungen mit der Silber-Methode fielen ziemlich mit einander übereinstimmend aus. In diesem Falle muss Gossage beinahe die Hälfte seiner Harnsäure bei Ausführung der Salkowski'schen Methode verloren haben, und in der That deuten seine Manipulations-Irrthümer dies an, denn in drei Doppelbestimmungen, welche er anführt, betrugen diese 6,5, 5 und 11 Milligr. Gossage's geringster Irrthum ist grösser, als der grösste jemals von Salkowski und Jolin angeführte.

Mr. Gossage's Resultate bieten vielleicht die beste Kritik für solche Methoden wie die von Salkowski und selbst von Ludwig. Diese mühsamen Verfahren, welche als Resultat einige wenige Milligramme mehr oder weniger unreiner Harnsäure liefern, zu wägen auf einem trockenen Filter und Reductionen für dieses oder jenes nöthig machen, sind nur dazu angethan, selbst genaue relative Resultate in der Hand eines geschickten und erfahrenen Manipulators zu geben, welcher bei sehr gleichmässigem Arbeiten im Stande ist, annähernde Gleichmässigkeit in seinen Resultaten zu erzielen.

Aus dem bisher Gesagten schliessen wir:

1. Die zahlreichen und werthvollen Analysen von Salkowski, Jolin, Hermann und Czapek, sowie meine eigenen Original-Bestimmungen zeigen, dass Harnsäure und Silber sich in dem Niederschlage in constanter Proportion verbinden, und somit wird der einzige Einwurf gegen meine Methode hinfällig.

2. Salkowski's Methode, wenn mit meiner Methode verglichen, giebt in den Händen von Salkowski und Jolin ein ziemlich gleichmässiges Deficit von 13 Milligr. per 100 cbcm. Harn. Ludwig's Methode, wenn mit meiner Methode verglichen, giebt ein Deficit von 3 Milligr. per 100 cbcm., welche

Differenz nach Camerer von den mehr zufriedenstellenden Resultaten, welche man mit Ludwig's Methode erhält, abhängig ist.

3. Dieses Deficit mag von einem Plus-Irrthum mit meinem Verfahren abhängig und verursacht sein durch andere Silberverbindungen, doch bin ich geneigt, dies zu bezweifeln, bis weiteres Beweismaterial geschaffen ist, und zwar aus dem Grunde, weil in der Ausführung dieser Verfahren zwei Bestimmungen mit demselben Harn, mit derselben Methode (Salkowski) eine Differenz von 2, 3 oder selbst 4 Milligr. ergeben, welche durch Manipulationsfehler allein verursacht ist. Mit Berücksichtigung dieser Thatsache ist es schwer, genaue Resultate innerhalb weniger Milligramme zu erhalten, denn neben solchen Manipulationsfehlern müssen stets noch andere constante Irrthümer in solchen Verfahren stattfinden. Unter diesen Umständen mag eine so kleine constante Differenz von 3 Milligr. wohl auf verschiedene Weise erklärt werden und bin ich nicht geneigt, zuzugeben, dass meine Methode selbst diesen kleinen Ueberschuss liefert; es sei denn, dass dieselbe neben einer Methode geprüft werde, welche absolut genaue Resultate zu liefern berechnet ist, und dies ist nicht der Fall mit der Ludwig'schen Methode.

4. Harn mit Harnsäure gesättigt liefert sehr auseinandergehende Resultate, welche ein sehr hohes Deficit mit Ludwig's und Salkowski's Methode ergeben. Diese bedürfen weiterer Nachforschung und wird es möglicherweise gefunden werden, dass Zusatz von Wasser genügt, um die Resultate mit den Bestimmungen normalen Harnes in Einklang zu bringen.

Bemerkungen über Hofmeister's krystallinisches Eieralbumin.

Von

Dr. S. Gabriel.

(Mittheilung aus dem thierchemischen Institut der Universität Breslau.)

(Der Redaction zugegangen am 20. März 1891.)

Mit der Darstellung des krystallinischen Eieralbumins von F. Hofmeister[1]) ist die für die physiologische Chemie so ausnehmend bedeutsame Frage nach der Krystallisirbarkeit der Eiweisskörper in ein neues Stadium getreten. Die bisherigen hierher gehörigen Beobachtungen von Schmiedeberg, Maschke, Drechsel, Barbieri, Grübler, Ritthausen beziehen sich auf vegetabilische Eiweissstoffe und zwar sind es vorzugsweise die globulinartigen Proteïnsubstanzen von Oelsamen, welche das Material zur Darstellung mikroskopischer, zum Theil an's Makroskopische reichender Krystalle liefern. Hofmeister's Untersuchungen haben einen animalischen Eiweisskörper zum Gegenstande, welcher gleichzeitig so ganz und gar der Typus eines colloidalen Körpers ist, dass mit dem Augenblicke, wo es gelingt, diesen Körper krystallisirt zu erhalten, die Unfähigkeit zu krystallisiren aufhört, eine charakteristische Eigenschaft der Colloidsubstanzen zu sein.

Auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Weiske habe ich die Versuche Hofmeister's wiederholt und mich zunächst streng an dessen Vorschriften gehalten. Nur in einem Punkte

---

[1]) F. Hofmeister, Ueber die Darstellung von krystallisirtem Eieralbumin und die Krystallisirbarkeit colloidaler Stoffe, diese Zeitschrift, Bd. XIV, S. 165.

stellte sich von vornherein die Nothwendigkeit heraus, von den Angaben Hofmeister's abzuweichen. Hofmeister löst den ersten Eiweissniederschlag in einer halbgesättigten Lösung von schwefelsaurem Ammon. Diese Operation wollte nicht gelingen und dürfte auch nicht ausführbar sein. Denn löst man das abgepresste Eiweiss in reinem Wasser und fügt das gleiche Volumen gesättigter schwefelsaurer Ammonlösung hinzu, so tritt bereits reichliche Eiweissfällung ein. Ich verfuhr daher stets in der Art, dass ich das Eiweiss in einer mässigen Menge destillirten Wassers auflöste und nun allmälig und unter Umschwenken so viel gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammon zufügte, bis eben eine leichte bleibende Trübung entstand, welche ich mit einem oder einigen Tropfen Wasser zum Verschwinden brachte. Dieses Verfahren verbürgt die Ueberzeugung, die Lösung in denjenigen Zustand gebracht zu haben, in welchem sie in Beziehung auf das Eiweiss gesättigt ist und beim geringsten Wasserverlust dasselbe ausfallen lässt; man vermeidet jedes nutzlose Verdunsten überschüssigen Wassers und reducirt die Zeit der Darstellung auf das geringste Maass.

Es gelang ohne Schwierigkeit, die von Hofmeister beschriebenen Formelemente darzustellen und dieselben in allen Stadien ihrer Entwicklung zu beobachten. Hofmeister legt grosses Gewicht auf die Langsamkeit und Gleichmässigkeit der Verdunstung, so dass z. B. — seiner Meinung nach — der Eintritt starker Sommerhitze genügt, das Gelingen der Darstellung in Frage zu stellen. Demgegenüber möchte ich betonen, dass die Krystallbildung beim Verdunsten in offenen Schalen bei hoher Zimmertemperatur, ja sogar beim Stehen über Schwefelsäure im Exsiccator ebenso leicht und reichlich erfolgte, wie bei dem sehr langsamen Verdunsten in bedeckten Gefässen.

Die anfangs entstehenden Kugeln, von Hofmeister Globulithe genannt, sind ihrer Grösse nach sehr verschieden und haben ganz das Ansehen von Fetttröpfchen in der Milch. Sie sind optisch durchaus homogen. Im Verlauf der Darstellung jedoch, bisweilen auch beim blossen Stehen, verlieren

sie diese Homogenität und zeigen dann eine ridial-fasrige Textur. Der Uebergang der einen Form in die andere gleicht täuschend dem Erstarren eines Flüssigkeitströpfchens zu einem concentrisch-strahligen Krystallaggregat. Die neuen Formen, von Hofmeister als Sphärolithe bezeichnet, sind die sicheren Vorboten der eigentlichen Eiweisskrystalle. Die letzteren sind in den ersteren bereits präformirt, sie sind die Structurelemente, aus denen sich die Krystallaggregate zusammensetzen. Die Sphärolithe zerfallen zunächst in Nadelbüschel, dann in einzelne Nadeln. Man kann den Uebergang der Sphärolithe in Nadeln auch willkürlich auf mechanische Weise, z. B. durch einen leisen Druck auf das Deckglas, herbeiführen und dann unter dem Mikroskop ganz direct beobachten.

Nebenbei sei bemerkt, dass die Globulithe nicht etwas ganz Neues darstellen. Drechsel[1]) hat ähnliche Gebilde am Globulin des Blutserums beobachtet und gleichzeitig die Vermuthung ausgesprochen, dass dieselben krystallinisch sind. Auch H. Ritthausen[2]) ist bei der Darstellung krystallinischer Eiweisskörper aus Oelsamen auf kuglige Absonderungen gestossen.

Bei dem hohen Interesse, welches die Hofmeister'schen Präparate in Anspruch nehmen, erschien es natürlich wünschenswerth, dieselben in irgend einer Form zu fixiren. Leider hatten darauf gerichtete Bemühungen nicht den gewünschten Erfolg. Trocknet man das abgepresste, in Nadeln abgeschiedene Eiweiss bei gewöhnlicher Temperatur über Schwefelsäure, so erhält man eine spröde, sehr leicht zerreibliche Masse, deren Pulver unter dem Mikroskop nicht die leiseste Andeutung von Krystallen oder Bruchstücken derselben erkennen lässt. Auch Versuche, das trockene Eiweiss mit indifferenten Flüssigkeiten aufzuschlämmen oder das schwefelsaure Ammon in Flüssigkeiten zu lösen, in denen das Eiweiss unlöslich ist, führten zu keinem befriedigenden Resultate.

---

[1]) Handwörterbuch der Chemie von Ladenburg, Breslau, Eduard Trewendt, Artikel Eiweisskörper.

[2]) Journal f. praktische Chemie, Bd. 23, S. 481.

Lässt man die Präparate auf dem Objectglas eintrocknen, so bleiben die verhältnissmässig grossen Kugeln erhalten, wenn auch der grösste Theil derselben durch mächtige Säulen von schwefelsaurem Ammon verdeckt ist; die feinen Nädelchen dagegen sind der Beobachtung entweder sämmtlich oder bis auf wenige einzelne entzogen. Ich brachte deshalb die Eiweissfällungen, um dieselben für Demonstrationszwecke aufzubewahren, zusammen mit ihrer Mutterlauge in verschliessbare Stöpselcylinder. Dabei stellte sich nun die überraschende Thatsache heraus, dass die Globulithe auch ohne jede weitere Manipulation, bei Ausschluss jeder Verdunstung und Concentrationsänderung, allmälig in Sphärolithe und Nadeln übergehen. Ein Präparat, welches anfänglich fast nur aus Globulithen bestanden hatte, zeigte nach mehrwöchentlichem Stehen nur wenige derselben; dagegen war das ganze Gesichtsfeld mit Nadeln übersäet. Nach dieser vorläufig noch vereinzelten Beobachtung wäre die Darstellung der Nadeln einer bedeutenden Vereinfachung fähig. Man brauchte die erste Eiweissfällung nur in verschliessbare Gefässe zu bringen und der Ruhe zu überlassen.

Die von Hofmeister befolgte Methode der Darstellung des krystallinischen Eieralbumins könnte zu der — auch von Hofmeister vertretenen — Anschauung verleiten, dass die Ursache der Krystallisation in einer Reinigung des Eiweisses liegt, welche durch das mehrmalige Auflösen und Wiederausfällen in ähnlicher Weise bewirkt wird, wie durch das Umkrystallisiren eines Salzes. Gegen eine solche Auffassung sprechen folgende Thatsachen: Es ist allerdings, wie Hofmeister angiebt, richtig, dass die ersten Nadeln in der Regel bei der dritten oder vierten Ausscheidung auftreten; dagegen konnten auch Fälle beobachtet werden, in denen gleich bei der ersten Ausscheidung neben den Globulithen Nadeln, bisweilen sogar in überwiegender Menge, vorhanden waren. Andererseits kamen Proben von Eiweiss zur Verarbeitung, welche sich immer wieder in Globulithen abschieden, so oft man auch das Auflösen und freiwillige Verdunsten wiederholte. Die Neigung zur Krystallisation nimmt

also mit dem Fortschreiten der Reinigung nicht zu, womit auch die Thatsache im Einklang steht, dass bereits krystallisirt gewesenes Eiweiss beim nochmaligen Auflösen keineswegs gleich wieder in Nadeln ausfällt. Das gewichtigste Argument gegen die oben erwähnte Anschauung bildet aber die bereits mitgetheilte Beobachtung, der zufolge die Globulithe auch ganz spontan in Nadeln übergehen können. Findet also eine Reinigung des Eiweisses statt — was an sich sehr wahrscheinlich ist, so ist dieselbe doch nicht die wahre, jedenfalls nicht die einzige Ursache der Krystallisation, wie denn überhaupt die Reinheit einer Substanz weit weniger die Ursache, als vielmehr die Folge der Krystallisation ist.

Wir werden der Wahrheit näher kommen, wenn wir den Grund für die Krystallisation des Eiweisses in der Natur des angewandten Lösungsmittels suchen. Dass die Krystallisation eines Körpers von der Art des Lösungsmittels beeinflusst wird, geht einfach aus der Thatsache hervor, dass viele Substanzen aus der einen Flüssigkeit leichter krystallisirt erhalten werden können, als aus der anderen. Dass dieser Einfluss aber auch bis zur völligen Verhinderung der Krystallisation anwachsen und die Natur des gelösten Körpers gänzlich verändern kann, zeigen z. B. Beobachtungen, welche B. Pawlewski[1]) neuerdings am Paraffin gemacht hat. Eine einprocentige, bei 20° erhaltene, Lösung von Paraffin in Benzol erstarrt, um 5—7° abgekühlt, zu einer gleichmässigen Gallerte, welche sich aus den Gefässen nicht herausgiessen lässt. Eine Lösung von 3,53 gr. Paraffin in 100 gr. Chloroform, bei 25—27° erhalten, giebt beim Abkühlen auf 18° eine so consistente Gallerte, dass sie 300 gr. Gewicht verträgt, ohne zusammengedrückt zu werden. Aehnlich verhalten sich Lösungen des Paraffins in Schwefelkohlenstoff und Terpentin. Dagegen scheidet sich das Paraffin aus seinen Lösungen in Essigsäure in Gestalt kleiner Schuppen ab, welche sich vollkommen vom Lösungsmittel trennen. Das Paraffin verhält sich also der Essigsäure gegenüber wie ein Krystalloid, dem Benzol u. s. w.

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 23, S. 327.

gegenüber wie ein Colloid. Die Untersuchung des Paraffins nach Raoult's Gefriermethode, welche die eigentliche Veranlassung zur Anstellung der eben erwähnten Experimente war, führte zu dem Resultate, dass die Molekulargrösse des Paraffins in seinen essigsauren Lösungen zwischen den Formeln $C_{24}H_{50}$ und $C_{27}H_{56}$ liegt, dass aber nicht gesättigte Lösungen in Benzol auf die doppelte, und gesättigte wahrscheinlich auf die vierfache Molekulargrösse schliessen lassen. — Die Analogie der Paraffinlösungen mit denen des Eiweisses legt uns die Annahme nahe, dass das in Nadeln abgeschiedene Eiweiss ein geringeres Molekulargewicht besitzt, wie das gewöhnliche; oder was dasselbe ist, dass das colloidale Eiweiss ein Polymerisationsproduct des krystallisirten ist. Ueber die Berechtigung dieser Annahme könnte die Raoult'sche Methode entscheiden, von welcher A. Sabanejeff[1]) kürzlich gezeigt hat, dass sie wohl geeignet ist, uns auch über die Molekulargrösse colloidaler Substanzen interessante Aufschlüsse zu gewähren. Sabanejeff hat auch das Eieralbumin in den Kreis seiner Untersuchungen gezogen. Dasselbe gab sehr kleine, aber messbare und übereinstimmende Depressionen, aus welchen sich als Minimum für die Molekulargrösse des Eiweisses die Zahl 15000 ableitet. Colloidale Kieselsäure gab so geringe Depressionen, dass dieselben in die Grenzen der Versuchsfehler fielen und den Schluss rechtfertigten, dass die Molekulargrösse der colloidalen Kieselsäure jedenfalls grösser als 49000 ist. Zu ebenso hohen oder noch höheren Werthen führte das colloidale Eisenhydroxyd. Die Molekulargrösse des Eiweisses ist also bedeutend, aber nicht so ungeheuerlich, wie vielfach angenommen wird. Sollte sich die Annahme, dass das krystallisirte Eiweiss ein noch geringeres Molekulargewicht besitzt, bewahrheiten, so würde dasselbe einen verhältnissmässig sehr einfach zusammengesetzten Eiweisskörper darstellen.

Berühren wir nun noch die Frage nach der chemischen Zusammensetzung des krystallinischen Eieralbumins, so lässt

---

[1]) Ref. im Chem. Centralblatt, 1891, S. 10.

es Hofmeister dahingestellt sein, ob reines Eiweiss oder eine Verbindung desselben mit schwefelsaurem Ammon vorliegt. Da wir wissen, dass das Eiweiss die Fähigkeit besitzt, sich mit verschiedenen Salzen in stöchiometrischen Verhältnissen zu verbinden[1]), so hat die Annahme einer Verbindung allerdings etwas für sich. Nähere Zahlenangaben fehlen in Hofmeister's Mittheilung. E. Harnack[2]) äussert sich darüber bei Gelegenheit seiner Studien über das aschefreie Eieralbumin wie folgt: «In dieser Hinsicht habe ich bisher nur die Erfahrungen von Hofmeister zu bestätigen vermocht. Es ist mir ohne besondere Schwierigkeit gelungen, schön krystallisirte Verbindungen des Albumins mit schwefelsaurem Ammon in Säulen und Tafeln zu erhalten, aber diese Verbindungen sind fast alle sehr eiweissarm, sie enthalten nur etwa 5 °/₀ Albumin.» Diese Worte lassen den Gedanken an Hofmeister's Präparat überhaupt nicht mehr aufkommen. Die Existenz einer Verbindung von 95 °/₀ schwefelsaurem Ammon mit 5 °/₀ Eiweiss ist bei dem hohen Molekulargewicht des Eiweisses höchst unwahrscheinlich und würde auch mit den bisher bekannten Thatsachen über die Zusammensetzung von Eiweissverbindungen in grellem Widerspruch stehen. In den Grübler'schen, aus Kürbissamen dargestellten, krystallinischen Präparaten[3]) schwankte der Gehalt an den verschiedenen Salzen etwa zwischen 0,58 und 1,20 °/₀. Harnack[4]) selbst giebt den Kupfergehalt der von ihm untersuchten Kupferalbuminate zu 1,35 und 2,64 °/₀ an.

Ich habe, um wenigstens eine ungefähre Vorstellung von der Zusammensetzung des Hofmeister'schen Eiweisses zu erhalten, an einem sehr gelungenen, fast ausschliesslich aus Nadeln bestehenden Präparat, welches circa ein Jahr lang über Schwefelsäure gelegen hatte, nachfolgende Bestimmungen ausgeführt:

---

[1]) S. G. Grübler, Journal f. praktische Chemie, Bd. 23, S. 97.
[2]) Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 23, S. 3745.
[3]) Journal für praktische Chemie, Bd. 23, S. 97.
[4]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 5, S. 198.

Wasser.

1,0382 gr. Substanz verloren durch Trocknen bei 110—115° C. 0,0350 gr. = 3,37 %.	Mittel: 3,39 % Wasser.
0,8651 gr. Substanz verloren durch Trocknen bei 110—115° C. 0,0295 gr. = 3,41 %.	

Asche.

1,0382 gr. Substanz hinterliessen beim Einäschern 0,0020 gr. Asche = 0,19 %.	Mittel: 0,19 % Asche.
0,8651 gr. Substanz hinterliessen beim Einäschern 0,0015 gr. Asche = 0,18 %.	

Gesammtstickstoff.

0,3600 gr. Substanz lieferten nach der Kjeldahl'schen Methode 0,055495 gr. N = 15,41 %.	Mittel: 15,40 % N.
0,4868 gr. Substanz lieferten nach der Kjeldahl'schen Methode 0,074652 gr. N = 15,34 %.	
0,3521 gr. Substanz lieferten nach der Kjeldahl'schen Methode 0,054409 gr. N = 15,45 %.	

Ammoniakstickstoff.

0,5072 gr. Substanz lieferten bei directer Destillation mit MgO 0,016618 gr. N = 3,28 %.	Mittel: 3,30 % Ammoniak-N.
0,5017 gr. Substanz lieferten bei directer Destillation mit MgO 0,016552 gr. N = 3,30 %.	
0,5812 gr. Substanz lieferten bei directer Destillation mit MgO 0,019267 gr. N = 3,32 %.	

100 Theile der analysirten Substanz enthalten also:

80,86 Eieralbumin (Differenz),
15,56 schwefelsaures Ammon (aus dem Ammonikstickstoff berechnet),
3,39 Wasser,
0,19 Asche (fixe Mineralstoffe).

Der Aschengehalt ist sehr gering und mit dem der bis jetzt am reinsten dargestellten Präparate vergleichbar. Der Gehalt an schwefelsaurem Ammon lässt sich ungezwungen aus der Menge der mechanisch anhaftenden Mutterlauge erklären. Wenn daher eine Verbindung von Eiweiss mit schwefelsaurem Ammon vorliegt, so dürfte der Salzgehalt derselben, ähnlich wie bei den Grübler'schen Präparaten, nur unbedeutend sein. Der Stickstoffgehalt des reinen Albu-

mins, frei von Wasser, Asche und schwefelsaurem Ammon gedacht, berechnet sich aus den oben angeführten Zahlen zu 14,96 %. Das Mittel aller bisher ausgeführten Analysen entspricht ungefähr 15,50 %. Das sehr reine, von K. V. Starke[1]) dargestellte, Eieralbumin zeigte nach Hammarsten's Analyse einen Stickstoffgehalt von 15,25 % — eine Zahl, welche sich der von mir erhaltenen schon mehr nähert.

In ähnlicher Weise habe ich ein aus Kugeln bestehendes Präparat, die zweite Ausscheidung aus schwefelsaurem Ammon, analysirt und bin dabei zu Zahlen gelangt, aus welchen sich der Stickstoffgehalt des reinen Albumins zu 15,10 % ableitet. Das Eieralbumin scheint also wesentlich stickstoffärmer zu sein, als die übrigen thierischen Eiweissstoffe.

Schliesslich sei noch erwähnt, dass ich versucht habe, die Globulinsubstanz der Paranüsse nach der Hofmeister'schen Methode krystallisirt zu erhalten; es gelang jedoch nur Kugeln, und zwar solche von sehr ansehnlicher Grösse, darzustellen; Krystalle konnten auch nach mehrmaligem Auflösen der Niederschläge nicht beobachtet werden, womit jedoch die Möglichkeit der Darstellung derselben nicht in Abrede gestellt werden soll.

---

[1]) Jahresber. f. Thierchemie, 1881, S. 17.

Ueber den Nachweis des Peptons und eine neue Art der quantitativen Eiweissbestimmung.

Von

Dr. Luigi Devoto,
Assistenten an der medicinischen Klinik in Genua.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.)
(Der Redaction zugegangen am 28. März 1891.)

Dem Ammonsulphat in gesättigter Lösung kommt bekanntlich die Eigenschaft zu, alle Eiweisskörper, mit Ausnahme der von Kühne Pepton genannten Substanz und der von der Protalbumose abstammenden Deuteroalbumose, zu fällen. Zu den fällbaren gehören alle im Blut und pathologischen Harn vorhandenen Eiweisskörper (Hämoglobin, Serumalbumin, Globulin), ferner die übrigen Albumosen, das Pepton von Brücke und, wie ich hinzufügen kann, das Nucleoalbumin. Diese Eiweisskörper zerfallen wieder in zwei Gruppen, in solche, welche in höherer Temperatur coaguliren, und in solche, die das nicht thun; nicht coagulabel sind von ihnen die secundären Albumosen und das Pepton von Brücke[1]).

Ich habe mir nun die Frage gestellt, ob es nicht möglich sei, auf diese zwei Eigenschaften der genannten Eiweisskörper,

[1]) Wiewohl nach Neumeister (Zeitschr. f. Biologie, Bd. 26, S. 339), sowie nach Hofmeister (Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 30, S. 110) von den Albumosen namentlich die Deuteroalbumosen einen wesentlichen Bestandtheil des Peptons nach Brücke ausmachen, führe ich doch dieses Pepton noch neben der Albumose an, weil das Brücke'sche Pepton in selbstständiger Weise chemisch charakterisirt ist und dieser Begriff sich eingebürgert hat, und weil ferner die Definition der Albumosen vor der des Peptons nach Brücke nichts voraus hat.

nämlich die Fällbarkeit aller durch Ammonsulphat und die Coagulirbarkeit nur einiger, ein Verfahren zu einer scharfen Scheidung der coagulablen von den nicht coagulablen zu gründen, und habe diese Frage unter Leitung des Herrn Prof. Huppert zum Gegenstand einer Untersuchung gemacht. Bei dieser hat sich ergeben, dass sich in der That die Eiweisskörper des Blutserums und der Transsudate, das Acidalbumin, der im normalen Harn vorkommende Eiweisskörper und das Nucleoalbumin der Synovia nach einem sehr einfachen Verfahren, aber mit analytischen Zwecken völlig genügender Schärfe von den secundären Albumosen und dem Pepton nach Brücke trennen lassen. Ungenügend dagegen erfolgt die Abscheidung des Hämoglobins und der Heteroalbumose.

Das Verfahren ist folgendes:

Man versetzt die eiweisshaltige Flüssigkeit in einem Becherglas auf 100 cbcm. mit 80 gr. krystallisirtem Ammonsulphat — d. i. so viel Salz, als die Flüssigkeit zur Sättigung in der Kälte braucht — und bringt zunächst das Salz in der Wärme (in einem Wasserbad) unter Rühren und Zerdrücken der Krystalle mit einem Glasstab zur völligen Lösung. Dazu sind 10—15 Minuten erforderlich. Alsdann setzt man das Glas noch 30—40 Minuten dem Dampf siedenden Wassers aus, worauf die Coagulation vollendet ist. Lässt man das Glas noch länger, bis 2 Stunden, im Dampf verweilen, so wird das Coagulum dichter, und das Filtriren und Auswaschen gehen dann schneller von statten.

Wichtig für das Verfahren ist es nun, dass das Gelingen der vollstängen Coagulation unabhängig von der Reaction der Eiweisslösung ist. Das Eiweiss in Blutserum oder Transsudat wird bei alkalischer Reaction ebenso vollkommen coagulirt, als wenn die Flüssigkeit mit so viel oder mehr Essigsäure angesäuert wird, als zur Abscheidung des Eiweisses durch Kochen allein erforderlich ist. Auch der Harn bedarf keiner weiteren Vorbereitung.

Dadurch, dass es nicht nöthig ist, der Eiweisslösung für die Coagulation einen ganz bestimmten Grad der sauren Reaction zu ertheilen, ist das neue Verfahren viel einfacher

und leichter ausführbar, als die Coagulation nach Scherer. Etwas umständlicher ist sie aber durch das Erhitzen der mit Salz gesättigten Lösung im Dampf. Doch ist diese Bedingung leicht zu erfüllen. Ich habe die Bechergläser in den Dampftopf gestellt, dessen sich Soxhlet zum Sterilisiren der Milch bedient. Ohne grössere weitere Vorrichtung lässt sich dazu aber auch jeder andere Topf benützen; man hat die Gläser nur auf eine feste, im Wasser nicht schwimmende Unterlage, z. B. einen kleinen eisernen Klotz, ein Stück Cementplatte zu stellen, oder sie in anderer Weise vor dem Umfallen während des Kochens zu sichern, und den Topf während des Kochens lose bedeckt zu halten.

Das Erhitzen im Dampftopf lässt sich aber nicht umgehen. So genügt es nicht, das Becherglas blos in ein kochendes Wasserbad einzutauchen; denn in diesem Falle entgeht ein kleiner Theil des Eiweisses der Coagulation, vielleicht deshalb, weil die sich an der Wand des Glases emporziehende Flüssigkeitsschicht nicht auf genügend hohe Temperatur gebracht wird. Ebenso wenig ist die Coagulation eine so vollständige, wie im Dampfbad, wenn man nach dem Sättigen der Lösung mit Ammonsulphat den entstandenen Niederschlag abfiltrirt und das Filter in einem Trockenkasten mehrere, selbst viele Stunden auf 120° erhitzt. Es ist dann in beiden Fällen im Waschwasser noch Eiweiss vorhanden.

Nach der Coagulation im Dampftopf ist weder im Filtrat, noch in den Waschwässern, selbst wenn das Auswaschen bis zur vollständigen Entfernung des Salzes fortgesetzt ist, weder durch die Biuretreaction, noch mit Ferrocyankalium und Essigsäure Eiweiss nachweisbar. Eine gleichfalls empfindliche Reaction auf Eiweiss besteht in dem Schichten einer Eiweisslösung auf krystallisirtes Ammonsulphat; bei Gegenwart von Eiweiss bildet sich in der unmittelbar über dem Salz befindlichen Schicht ein weisser, ringförmiger Niederschlag[1]. Auch

---

[1] Bei der Anwendung in dieser Form ist das Reagens empfindlicher, als wenn man die Lösung, wie Kauder (Arch. f. exper. Pathol., Bd. 20, S. 416), sowie Pohl (das, Bd. 20, S. 428) die Eiweisslösung mit 0,1—0,2 cbcm. der gesättigten Ammonsulphatlösung mischt.

mit dieser Reaction ist nach der Coagulation kein Eiweiss aufzufinden. Wie natürliche Eiweisslösungen (Blutserum, Transsudat) verhält sich auch der Harn; nur ist auf diesen die Prüfung mit Ammonsulphat nicht anwendbar, weil die Harnsäure eine dem Eiweissniederschlag ähnliche Trübung von Ammonurat giebt. Ich muss jedoch noch erwähnen, dass Filtrat und Waschwässer mit Jodquecksilberkalium eine schwache Trübung geben. Rührt diese von Eiweiss und nicht etwa von anderen Bestandtheilen der natürlichen Eiweisslösungen her, so würde auch bei dieser Art der Coagulation eine Spur Eiweiss nicht gefällt werden. Für die Verwendung des neuen Coagulationsverfahrens zum Nachweis des Peptons neben Eiweiss ist dieser Mangel aber durchaus belanglos; denn wie ich mich durch sehr zahlreiche Versuche überzeugt habe, erreicht die der Fällung entgehende Eiweissmenge niemals eine solche Grösse, dass sie sich durch die typische Peptonreaction, die Biuretfärbung, oder eine der anderen angeführten Eiweissreactionen bemerkbar machte. Auch normaler sowie peptonfreier Eiweissharn giebt nach der Coagulation mit Ammonsulphat die Biuretreaction niemals.

Zum Nachweis von Pepton in natürlichen Eiweisslösungen und im Harn unterwirft man von den Eiweisslösungen 50—100 cbcm., vom Harn 200—300 cbcm. zuerst der Coagulation mit Ammonsulphat, den Harn zur Beseitigung des Nucleoalbumins auch dann, wenn er sich sonst als eiweissfrei erweist. Nach dem Erkalten bringt man entweder den Niederschlag sammt dem Antheil Salz, welcher wieder auskrystallisirt ist, auf ein Filter und wäscht mit heissem Wasser aus; oder man giesst die Salzlösung möglichst vollständig vom Niederschlag durch ein Filter ab, spritzt das Filter in das Becherglas zurück und löst den ganzen Inhalt des Becherglases in kaltem Wasser. Mit den einzelnen Portionen des Waschwassers oder mit einem Theil der gesammten Lösung hat man alsdann die Biuretreaction anzustellen, ausserdem nachzusehen, ob nicht andere durch Ferrocyankalium und Essigsäure fällbare Eiweisskörper zugegen sind. Denn selbstverständlich ist nur bei Abwesen-

heit solcher die Biuretprobe für die Gegenwart von Pepton beweisend.

Bei dieser Prüfung mit Ferrocyanwasserstoff ist aber zweierlei zu berücksichtigen.

In der Regel nämlich geben eiweissfreie Ammonsulphatlösungen mit diesem Reagens nach kürzerer oder längerer Zeit eine feine Trübung, welche der von Spuren Eiweiss sehr ähnlich ist. Mit käuflichem Ammonsulphat tritt dieser Niederschlag sehr bald und relativ reichlich auf. Ammonsulphat, welches mit Schwefelammon vom Eisen befreit und wiederholt mit und ohne Zusatz von Ammoniak umkrystallisirt wurde, gab noch eine schwache Trübung nach 5—10 Minuten. Ebenso verhielt sich ein Ammonsulphat, welches aus reinem, aus Salmiak dargestelltem Ammoniak und frisch destillirter Schwefelsäure bereitet war[1]). Es ist also zu diesen Versuchen möglichst reines, wenigstens mit Schwefelammon behandeltes Ammonsulphat zu verwenden und eine Trübung mit Ferrocyankalium und Essigsäure nur dann auf die Gegenwart von Eiweiss zu beziehen, wenn sie sich innerhalb der ersten Minuten nach Zusatz der Reagentien zeigt. Die Gefahr einer Verwechslung dieses Niederschlags wird übrigens immer geringer, je weiter man das Coagulum auf dem Filter auswäscht; der durch das Salz bedingte Niederschlag bleibt endlich aus, während Eiweiss oder Pepton noch lange nachweisbar sind.

Ferner ist zu berücksichtigen, dass eine mit Ferrocyankalium und Essigsäure sofort entstehende Trübung nicht eindeutig auf Eiweiss bezogen werden kann, sondern dass von den hier in Frage kommenden Substanzen auch die primären Albumosen bei dieser Reaction gefällt werden. Dieser Umstand hat indess für den Nachweis des Peptons nicht viel auf sich. Denn wenn die Coagulation mit Ammonsulphat

[1]) Diese Präparate sind vom Assistenten des Institutes, Herrn Dr. Kossler, dargestellt worden. Hierfür, sowie für mannigfache andere Beihilfe bei dieser Untersuchung spreche ich ihm auch an dieser Stelle meinen Dank aus.

genau nach der gegebenen Vorschrift ausgeführt worden ist, so kann man sich auch darauf verlassen, dass sich kein Eiweiss mehr im Filtrat vorfindet. Tritt dann mit Ferrocyanwasserstoff eine Trübung oder Fällung auf, die auf Eiweiss bezogen werden müsste, so könnte es sich auch um eine primäre Albumose, insbesondere um Heteroalbumose handeln, und diese wäre dann durch eine gesonderte Untersuchung nach bekannter Methode aufzusuchen.

Das Pepton wird mittels der Biuretprobe nachgewiesen, und zwar, da zugleich Ammonsulphat vorhanden ist, nach Kühne's Vorschrift unter Zusatz von viel concentrirter Natronlauge. Bei der Untersuchung von serösen Flüssigkeiten auf Pepton kann man zum Nachweis desselben auch so verfahren, dass man das Waschwasser auf krystallisirtem Ammonsulphat stehen lässt; bei Anwesenheit von Pepton zeigt sich dann über dem Salz eine weisse Zone, gleich der bei Gegenwart von Eiweiss; nur auf Harn ist die Prüfung mit Ammonsulphat nicht anwendbar, des Niederschlags von Ammonurat wegen, der hier, wie bereits bemerkt, entsteht. Wäscht man das Coagulum auf dem Filter aus, so nimmt die Menge des sich lösenden Peptons mit der Verdrängung des Salzes und bis zu einer gewissen oberen Grenze mit der Menge des vorhandenen Peptons zu. Verwendet man also die Waschwässer zum Aufsuchen des Peptons, so ist bei einem negativen Ausfall der ersten Proben die Prüfung der einzelnen Portionen des Waschwassers noch fortzusetzen, namentlich wenn man über die Abwesenheit des Peptons Gewissheit haben will. Tritt die Peptonreaction einmal in einer Probe auf, so ist sie dann auch noch in den nächsten und selbst in einer grösseren Zahl derselben zu sehen.

Bei der Untersuchung von Harn sind die ersten Waschwässer farblos; wenn das Wegwaschen des Salzes aber fortschreitet, beginnt auch der gefällte Harnfarbstoff in Lösung zu gehen und die Filtrate fangen an, sich zu färben. In der Regel tritt aber bei Gegenwart von Pepton die Biuretprobe schon in den farblosen Antheilen auf und da, wegen der Abwesenheit des Farbstoffes, in einer Reinheit, wie man sie

nach dem Fällen des Peptons mit Phosphorwolframsäure nie beobachtet. Auch die gefärbten Waschwässer geben die Probe, wenigstens die schwach gefärbten, noch mit grosser Deutlichkeit.

Wiewohl das Hämoglobin nach dem beschriebenen Verfahren nicht vollständig coagulirt wird, lässt es sich doch noch bei einiger Vorsicht auf den Nachweis von Pepton auch in bluthaltigen Flüssigkeiten anwenden. Ist nämlich Pepton zugegen, so geht dieses beim Auswaschen des Niederschlags früher in Lösung, als der nicht coagulirte Theil des Blutfarbstoffs, und die ersten Filtrate pflegen dann mit Ferrocyankalium und Essigsäure keine Reaction, aber eine deutliche Biuretfärbung zu geben.

Selbstverständlich würde nach dem geschilderten Verfahren auch die von Kühne Pepton genannte Substanz dem Nachweis nicht entgehen. Sie wäre im salzgesättigten Filtrat aufzusuchen. Doch muss ich bemerken, dass sie mir bei meinen Untersuchungen nicht begegnet ist und dass ich sie auch bei eigens darauf gerichteten Versuchen im Harn nicht nachweisen konnte. Der dazu verwendete Harn stammte von 4 Fällen von Pneumonie und je 1 Falle von Phthisis mit Cavernen, Empyem und Abscessbildung. Diese sieben Harne ergaben bei der Untersuchung nach Hofmeister sowohl als nach meiner Methode einen Gehalt an Pepton. Schulter[1]) hat gleichfalls das Pepton nach Kühne im Harne nicht nachzuweisen vermocht, und zwar bediente er sich zur Abscheidung dieses Peptons der Phosphorwolframsäure; da jedoch das Pepton Kühne's durch diese Säure nur unvollständig gefällt wird, so konnte es ihm entgangen sein. Ich habe deshalb die Fällung mit Tannin vorgenommen.

Um ein Maass für die Empfindlichkeit der Probe zu gewinnen, habe ich in verdünntem Blutserum auf 1500 Theile 1 Theil Witte'sches Pepton gelöst. Trotz dieser grossen Verdünnung der Peptonlösung habe ich bei Verwendung von nur 30 cbcm. des Serums das Pepton in mehreren Portionen der ersten Waschwässer durch die Biuretfärbung mit aller

---

[1]) Schulter, Jahresb. f. Thierchemie, 1886, S. 228.

Sicherheit nachweisen können; diese 30 cbcm. Lösung enthielten aber nur 2 mgr. Witte'sches Pepton.

Weiter habe ich in Bezug auf die Empfindlichkeit mein Verfahren mit dem Hofmeister's verglichen und zu diesem Zweck das Pepton in einer und derselben, mittels Pepsinsalzsäure dargestellten Verdauungsflüssigkeit nach beiden Methoden polarimetrisch bestimmt. Wurden die beobachteten Drehungen auf gleiche Anfangsvolume berechnet, und die bei dem Hofmeister'schen Verfahren beobachtete Drehung gleich 10 gesetzt, so betrug die Drehung der nach meinem Verfahren isolirten Peptonmengen in verschiedenen Versuchen zwischen 10,8 und 15,0. Nach meinem Verfahren wurde also immer mehr Pepton gefunden, als nach Hofmeister's Verfahren. Das Verhältniss zwischen den beiden Mengen der beiden Peptone war zudem kein constantes, es schwankte je nach den Bedingungen, unter welchen der Verdauungsversuch angestellt worden war. Der Unterschied in der Drehung liegt nun nicht etwa daran, dass die nach meinem Verfahren gewonnenen Lösungen wegen ihres Gehaltes an Ammonsulphat stärker drehten, denn ich habe mich überzeugt, dass die specifische Drehung des Peptons durch das Ammonsulphat nicht geändert wird, selbst dann nicht, wenn man eine Peptonlösung mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulphatlösung versetzt. Da nun auch, wie bereits angegeben, das Acidalbumin durch mein Verfahren vollständig abgeschieden wird, so kann der Unterschied in den Resultaten, die nach Hofmeister's und meinem Verfahren erhalten werden, nur darin seinen Grund haben, dass nach Hofmeister's Verfahren ein grösserer Antheil der Albumosen aus dem Verdauungsgemisch gefällt wird, als nach meinem Verfahren.

Es lässt sich demnach auch erwarten, dass man das Pepton nach meinem Verfahren mit grösserer Sicherheit findet, als nach dem von Hofmeister. In der That ist dies auch der Fall. Ich habe den Harn von 14 verschiedenen Individuen, nämlich in 6 Fällen von Pneumonie, 2 Tuberculosen, 3 Eiterungen, 1 Rheumatismus und 2 pleuritischen Exsudaten, gleichzeitig nach Hofmeister's und nach meinem Verfahren

auf Pepton untersucht und in allen Fällen nach meinem Verfahren Pepton gefunden, nach Hofmeister auch in 13 Fällen, in einem dagegen nicht.

In diesem Unterschied zwischen den beiden Methoden kann ich nichts Nachtheiliges für mein Verfahren erblicken. Bei der Feststellung der Peptonurie handelt es sich ja um den Nachweis von nicht coagulablen, der Gruppe der Albumosen angehörigen Eiweisskörpern, und dann wäre ein Verfahren, bei welchem die Albumosen minder leicht dem Nachweis entgehen, demjenigen viel mehr vorzuziehen als nachzusetzen, bei welchem der Verlust an Albumosen ein grösserer ist.

Mein Verfahren unterscheidet sich weiter von dem Hofmeister's durch seine grössere Einfachheit in der Ausführung, namentlich insofern, als das gesonderte Ausfällen des Eiweisses in Wegfall kommt. Dieses erfordert nicht nur grosse Sorgfalt und Uebung, sondern, was besonders hervorzuheben ist, versagt auch manchmal vollständig, wodurch in solchen Fällen die Untersuchung auf Pepton unausführbar wird. Wer die Hofmeister'sche Methode oft angewendet hat, dem werden, wie mir und Anderen, Harne vorgekommen sein, aus welchen sich eine durch Ferrocyanwasserstoff fällbare Substanz durch Eisenchlorid, auch nach genügendem Zusatz von Bleiacetat, nicht entfernen lässt. Als Vorzug meines Verfahrens wäre noch zu erwähnen, dass bei meinem Verfahren die Biuretprobe in ungefärbten Lösungen ausgeführt werden kann, oder doch wenigstens in Lösungen, die viel weniger gefärbt sind, als die nach Hofmeister's Verfahren gewonnenen; ferner, dass nach meinem Verfahren die Biuretprobe an einem Object nicht blos einmal, sondern öfter angestellt werden kann.

Wenn ich somit mein Verfahren zum Nachweis des Peptons im Harn für einfacher und sicherer halte, als das Hofmeister'sche, und es deshalb für weitere Verwendung empfehlen zu dürfen glaube, so soll damit jedoch durchaus nicht der Werth, welchen Hofmeister's Verfahren für die grundlegende Erforschung der Peptonurie besessen hat, herabgesetzt und Hofmeister's Verdienst um diese Frage geschmälert werden.

Ist nun das Ammonsulphat zu so vollkommener Fällung der coagulabeln Eiweisskörper tauglich, dass neben diesen Pepton nachgewiesen werden kann, so muss es auch zur quantitativen Bestimmung des Eiweisses geeignet sein.

Bei dem für diesen Zweck jetzt allgemein gebräuchlichen Scherer'schen Verfahren hängt die Genauigkeit des Resultats bekanntlich wesentlich davon ab, dass der der Coagulation unterworfenen Eiweisslösung der richtige Grad der sauren Reaction ertheilt wird; sonst entgeht ein Theil des Eiweisses der Bestimmung. Die Coagulation unter Zusatz von Ammonsulphat ist dagegen völlig unabhängig von der Reaction der Lösung. Trotz der Verschiedenheit der Reaction fallen die Bestimmungen doch quantitativ genau aus. Ich habe in gleichen Volumen derselben natürlichen Eiweisslösung das Eiweiss mittels Ammonsulphats coagulirt bei der für die Coagulation geeigneten sauren Reaction, ferner nach Zusatz eines Ueberschusses von Säure und bei stark alkalischer Reaction, und so im Mittel von je zwei Bestimmungen 0,2184, 0,2190 und 0,2172 gr. Eiweiss gefunden, Zahlen, welche von einander nicht weiter abweichen als die zweier einzelner Bestimmungen derselben Lösung nach ein und demselben Verfahren. Weitere Analysen, welche ich sofort anführen werde, haben die gleiche Unabhängigkeit der Resultate von der Reaction der Eiweisslösung ergeben.

Es erschien mir ferner von Wichtigkeit, die Resultate zu vergleichen, welche man bei der Eiweissbestimmung nach Scherer und bei der mittels Ammonsulphat erhält. Es dienten dazu zwei verschiedene natürliche Eiweisslösungen mit verschiedenem Gehalt an Eiweiss. Die Bestimmungen wurden wieder paarweise ausgeführt, die unter Anwendung von Ammonsulphat bei verschiedener Reaction. Es wurde gefunden im Mittel:

	Nach Scherer.	Mit Ammonsulphat.		
		Richtig sauer.	Stark sauer.	Stark alkalisch.
I.	0,1952	0,1997	0,1996	0,1997
II.	0,0817	—	0,0855	0,0862

Darnach sind bei der Bestimmung nach Scherer die Werthe etwas niedriger ausgefallen, als bei der Bestimmung mit Ammonsulphat, und zwar in der einen Reihe um 2,2 %, in der anderen um 4,8 %. Dass bei der Bestimmung mit Ammonsulphat mehr Eiweiss gefunden wurde, hätte seinen Grund in einem ungenügenden Auswaschen des Niederschlags oder in einer Beimengung eines schwer löslichen Salzes, z. B. Calciumsulphat, zum Eiweissniederschlag haben können. Aber Beides war nicht der Fall; denn die Niederschläge wurden so lange mit heissem Wasser gewaschen, bis die Filtrate mit Chlorbaryum auch nach längerem Stehen keine Trübung mehr zeigten, und beim Veraschen hinterliessen die mit Ammonsulphat erhaltenen Niederschläge nicht mehr Asche, als die nach Scherer gewonnenen.

Der Grund, warum bei der Bestimmung nach Scherer weniger Eiweiss gefunden wird, ist der, dass dabei etwas Eiweiss der Fällung entgeht. Bei diesen Bestimmungen bin ich so verfahren, dass ich die natürliche Eiweisslösung nach dem Verdünnen mit 2procentiger Kochsalzlösung nach und nach mit Essigsäure versetzte, bis eine Probe nach dem Coaguliren ein Filtrat lieferte, welches durch Essigsäure und Ferrocyankalium nicht mehr getrübt wurde. Von der so hergerichteten Lösung wurde dann ein abgemessener Theil direct zur Coagulation verwendet. Auf diese Weise habe ich es vermeiden können, dass die vom Coagulum abfiltrirte Flüssigkeit Eiweiss in einer durch Ferrocyanwasserstoff nachweisbaren Menge enthielt. Mittels festem Ammonsulphat aber, sowie mit Salzsäure und Phosphorwolframsäure wurden in den Filtraten beträchtliche Trübungen erhalten. Fällt man das Eiweiss aber in der Weise aus, dass man der siedenden Flüssigkeit verdünnte Essigsäure bis zur deutlichen Flockenbildung zusetzt, so kann es, trotz anscheinend vollkommen gelungener Coagulation, geschehen, dass sich das Filtrat auch mit Essigsäure und Ferrocyankalium trübt und eine zweifellose Biuretreaction giebt.

Für die Bestimmung des Eiweisses mit Ammonsulphat wurden eben so grosse Volume abgemessen, wie für die

Bestimmung nach Scherer, und diese dann direct, oder nach stärkerem Ansäuern oder nachdem sie wieder alkalissh gemacht worden waren, zum Versuch verwendet. Hier war nun weder im ersten Filtrat, noch in den Waschwässern, wenn bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaction gewaschen wurde, auf die oben angegebene Art irgend eine Spur Eiweiss nachweisbar.

Die quantitative Bestimmung des Eiweisses mit Ammonsulphat ist also nicht nur bequemer, weil sie die Ertheilung der richtig sauren Reaction überflüssig macht, sondern auch genauer, weil sie Eiweissverluste verhütet. Es hat dabei nichts auf sich, dass das Wegwaschen des Sulphats vielleicht etwas länger dauert, als das Wegwaschen der Chloride bei der Bestimmung nach Scherer.

Das Verfahren ist für die quantitative Bestimmung ganz dasselbe, wie das bereits zur Abscheidung des Eiweisses für das Aufsuchen des Peptons beschriebene. Ist es nöthig, die Eiweisslösung, um kleine Volume genauer abmessen zu können, zu verdünnen, so bediene man sich dazu einer 2procentigen Kochsalzlösung.

Mit natürlichen Eiweisslösungen, wie Blutserum oder Transsudaten, giebt dieses Verfahren ausgezeichnete Resultate. Bei der Coagulation von Blut erhält man jedoch leicht gefärbte Filtrate. Aber auch nach Scherer ist die vorwurfsfreie Ausfällung des Eiweisses aus Blut bekanntlich nicht leicht.

Das klinische Material zu dieser Untersuchung verdanke ich der Gefälligkeit der Herren Professoren v. Jaksch und Przibram; ich unterlassc nicht, ihnen hierfür auch an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Zur Kenntniss des Ichthulins und seiner Spaltungsproducte.

Von

Dr. G. Walter.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 20. April 1891.)

Seitdem Virchow[1]) und Lehmann[2]), Dumas und Cahours[3]) die Eiweissnatur der Dotterplättchen erkannt und damit die ältere Anschauung, die sie für Fett (oder Stearin) ausgab, widerlegt hatten, sind dieselben wiederholt Gegenstand eingehenderer chemischer Untersuchungen geworden.

A. Valenciennes und Frémy[4]) gehören zu den Ersten, welche die Dotterplättchen zu analysiren unternahmen. Es erwiesen sich dazu die Dotterplättchen der Knorpelfische wegen ihrer Unlöslichkeit in Wasser besonders geeignet, weil die Eier nur mit Wasser zerdrückt und die sich reichlich absetzenden Eiweisskörper geschlämmt und mit Alkohol und Aether ausgewaschen zu werden brauchten, um ein von

---

[1]) R. Virchow, Ueber Sarcine. Froriep's Not., 1846, No. 825, Sp. 173; und: Ueber die Dotterplättchen bei Fischen und Amphibien. v. Siebold u. Koelicker's Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie, Bd. IV, Heft II, S. 236.

[2]) C. G. Lehmann, Lehrb. d. physiol. Chemie, Bd. II, 1850, S. 349, und Zoochemie, S. 282.

[3]) Dumas et Cahours, Mém. sur les matières azotées neutres de l'organisation. Ann. de chim. et de physique, 3e série, T. VI' p. 423.

[4]) A. Valenciennes et Frémy, compt. rend., T. 38 (1854), p. 471 u. ff.; Recherches sur la composition des œufs dans la série des animaux.

fremden Beimengungen freies Präparat zu erhalten, das sie sodann der chemischen Analyse unterwarfen und «Ichtine» benannten. In der eigenthümlichen, regelmässigen Form der tafelförmigen Körnchen glaubten sie Krystalle zu erkennen, was sie indessen mit der Eiweissnatur derselben nicht in Einklang zu setzen wussten. Aehnliche tafelförmige Gebilde (... des granules transparents, en tablettes, qui rappellent tout à fait ceux du vitellus de la Raie) fanden sie in der Reihe der Knorpelfische nur in den Eiern unseres einheimischen Karpfen und einer chinesischen Karpfenart, die sie aber, weil in Wasser löslich, als verschieden von jenen der Knorpelfische, dem Ichthin, erkannten und als «Ichtidine» bezeichneten. Radlkofer[1]) hat die Dotterplättchen des Karpfeneis einer sorgfältigen mikroskopischen Untersuchung unterworfen. Er beschreibt sie als in der Mehrzahl «rectanguläre oder nahezu quadratische, platte Täfelchen» von wechselnder Grösse, die, vermischt mit Dotterbläschen (Dotterzellen), den grössten Theil des Eies ausmachen; er weist nach, dass sie wirkliche Krystalle und als solche doppelbrechend und spaltbar sind, dass sie umkrystallisirt werden können — allerdings nach einer nur für den Mikroskopiker brauchbaren Methode — und unterzieht sie sodann einer ausführlichen mikrochemischen Untersuchung.

Während die Substanz dieser Dotterplättchen sich zunächst durch ihre Löslichkeit in Wasser der chemischen Analyse zu entziehen schien, erhielten die oben genannten Autoren, Valenciennes und Frémy, aus derselben wässrigen Lösung, in welche die Dotterplättchen übergegangen waren, durch Zusatz reichlicherer Wassermassen den Niederschlag eines Eiweisskörpers, dem sie den Namen «Ichtuline» beilegten und den sie im Verlauf ihrer ausgedehnten Untersuchungen allgemein in den Eiern der Knochenfische verbreitet fanden. Obgleich der gewonnene Körper nur in physikalischer Hinsicht sich von dem Ichthidin unterschied, chemisch sich aber

[1]) L. Radlkofer, Ueber Krystalle proteinartiger Körper pflanzlichen und thierischen Ursprungs, Leipzig 1859. Daselbst vollständiges Verzeichniss der älteren Literatur.

demselben ganz ähnlich verhielt[1]), so glaubten sie dennoch in den Karpfeneiern das Vorhandensein zweier verschiedener Eiweisssubstanzen annehmen zu müssen, deren eine, das Ichthidin (Dotterplättchen), in Wasser löslich sei, während die andere, das in der Eimasse gelöste Ichthulin, durch Wasser gefällt werde.

«L'examen des œufs de carpe, encore jeunes, nous a aussi démontré que, pour étudier les œufs de ces Cyprinoides, il faut se garder de les mettre en contact avec l'eau, qui dissout souvent des corps dont il est important de constater la présence, et qui, dans des autres cas, précipite des substances telles que l'Ichtuline qui étaient d'abord en dissolution.»

Dass der Unterschied ihrer beiden Substanzen nur ein scheinbarer ist, geht aus der Eigenschaft des frisch gefällten Ichthulins hervor, sich in verdünnten Salzlösungen vollkommen zu lösen, bei reichlichem Wasserzusatz aber wieder auszufallen; beim Behandeln der salzreichen Karpfeneier mit Wasser treten nach einander dieselben Erscheinungen auf, indem Salzlösungen gebildet werden, welche erst das krystallisirte Eiweiss lösen, bei starker Verdünnung aber wieder fallen lassen. Es stellt also das Ichthulin wohl nichts Anderes als die amorphe Ausfällung des Ichthidins vor, wenn man auch immerhin wird insofern einen Unterschied gelten lassen müssen, als das Ichthidin vielleicht die krystallisirte Verbindung von Ichthulin mit einem Metall (Na, Mg), vielleicht auch mit Lecithin oder einer ähnlichen, phosphorhaltigen Base repräsentirt. Wenn es erlaubt ist, allgemein für die Eier der unter sich doch nah verwandten Arten der Knochenfische eine einheitliche organische Zusammensetzung vorauszusetzen, so erklärt sich die Ausnahmestellung des Karpfeneis einfach dadurch,

---

[1]) L. c., S. 529. «L'Ichtuline, qui par ses propriétés physiques s'éloigne sous tous les rapports de l'Ichtine, s'en rapproche beaucoup par ses caractères chimiques. Elle est, comme cette dernière, soluble dans les acides acétique et phosphorique; elle se dissout aussi dans l'acide chlorhydrique, sans produire de coloration violette.»

dass hier eben das Ichthulin für die Krystallisation günstige Bedingungen findet, während es in den Eiern anderer Knochenfische in Lösung gehalten bleibt.

Gewinnung, Analyse und Eigenschaften des Ichthulins.

Valenciennes und Frémy stellten Ichthulin in grösserer Menge aus Salmenrogen her. Aus der durch Auspressen der Eier zwischen Leinwand unter Zusatz von wenig Wasser gewonnenen Flüssigkeit wurde durch Zusatz grösserer Mengen Wassers Eiweiss gefällt, welches durch Auswaschen mit Alkohol und Aether gereinigt wurde. Die Analyse ergab: C 52,5, H 8,0, N 15,2, P 0,6, S 1,0, O 22,7; in einer zweiten Analyse wurde gefunden: C 53,3, H 8,3. Ausser seiner Löslichkeit in Salzsäure und Phosphorsäure gaben sie keine Eigenschaften ihres Eiweisskörpers an.

Im Anschluss an eine Reihe von Untersuchungen über Eiweisskörper nahm Herr Prof. Kossel das fast vergessene Ichthulin wieder auf. Herr Prof. Kossel hatte die grosse Liebenswürdigkeit, eine sorgfältigere, auf die heutige, vertiefte Kenntniss der Eiweissstoffe basirte Untersuchung des Ichthulins mir zu überlassen, wofür ich ihm, sowie für seine geschätzten Rathschläge, an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte.

Als Ausgangsmaterial wurden die am leichtesten zu beschaffenden Rogen des Karpfen gewählt; doch hätte man nach den Befunden Valenciennes' und Frémy's ebensowohl von irgend einem anderen weiblichen Knochenfisch ausgehen können. Nach ihren Angaben sollen sowohl Ichthidin als Ichthulin nur in unreifen Eiern enthalten sein und mit zunehmender Reife verschwinden. «Il résulte, en effet, de nos analyses, que les œufs de carpe entièrement formés ne contiennent plus de traces d'Ichthidine, que l'Ichthuline disparaît aussi peu à peu, et que, quand ils sont devenus tout à fait transparents, ces œufs sont formés uniquement par une liqueur fortement albumineuse qui tient en suspension de la graisse phosphorée.» Da meine Versuche in die Zeit von October bis Februar fielen, so kamen bei der Herstellung

der Präparate nur unreife Eier — die Laichzeit des Karpfen fällt in die Monate Mai und Juni — zur Verwendung; während jenes Zeitraums konnte ich neben einem merklichen Wachsthum der Rogen nur ein erfreuliches Anwachsen der daraus erzielten Eiweiss-Ausbeuten constatiren.

Die Geschlechtsapparate der Fische bieten bei der Herstellung von Eiweisspräparaten vor anderen thierischen Organen den grossen Vortheil, dass bei ihrer Verarbeitung die so lästige Verunreinigung mit Blut fast gänzlich ausgeschlossen ist. So brauchten die Eierstöcke des Karpfen nur von der sie sackförmig umgebenden Haut abgetrennt und mit etwas Wasser abgespült zu werden, um ein nach dieser Richtung hin tadelloses Rohmaterial abzugeben. Die Rogen wurden zunächst mit gut ausgewaschenem Sand zerdrückt und mit Wasser zu einem dünnen Brei angerührt, welcher nach etwa einstündigem Stehen unter Auspressen colirt und filtrirt wurde. Das gelbbraune, nie vollkommen klare, opalisirende Filtrat wurde unter Umrühren in grosse Mengen destillirten Wassers gegossen, wo sofort eine weisse, wolkige Trübung entstand, die bei fortgesetztem Einleiten von Kohlensäure einer flockig-voluminösen Fällung wich. Der sich ziemlich langsam absetzende Niederschlag, das rohe Ichthulin Valenciennes' und Frémy's, ballte sich zu einer klebrigen, röthlich-weissen Masse zusammen, die nach Abgiessen des darüber stehenden trüben Wassers auf dem Filter gesammelt und in der eben ausreichenden Menge einer sehr verdünnten Magnesiumsulfatlösung gelöst und filtrirt wurde. Da das Filtriren der klebrig schleimigen Flüssigkeit äusserst langsam von statten ging, bei längerem Contact mit Wasser aber das Ichthulin seine Löslichkeit einbüsst, so ging stets ein beträchtlicher Theil des Niederschlages, als unlöslich geworden, für die weitere Verarbeitung verloren. Aus dem ziemlich klaren, gelbbraunen Filtrat wurde nochmals in der gleichen Weise wie zuvor der Eiweisskörper gefällt, der Niederschlag auf dem Filter gesammelt (eventuell durch Centrifugiren abgeschleudert) und nun durch Auswaschen mit Alkohol und Aether gereinigt. Nach Abdunsten des Aethers unter der Luftpumpe hinterblieb das Ichthulin

als ein schneeweisses, zartes, hygroskopisches Pulver, welches beim Trocknen bei 110° eine gelbliche Färbung annahm.

Der Elementaranalyse unterworfen, zeigte es sich bald, dass übereinstimmende Werthe nur dann erzielt wurden, wenn zunächst die jeweils zur Verbrennung bestimmte Substanzmenge, die selbst im Exsiccator bei längerem Liegen an Gewicht zunahm, kurz vor deren Ausführung bei 100—110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet worden war, die Verbrennung aber in der Weise ausgeführt wurde, dass nach der in der üblichen Weise erfolgten Veraschung mittelst Bleichromat und Kupferoxyd unter Vorlegen einer Kupferspirale noch mindestens 30 Minuten lang Sauerstoff übergeleitet wurde.

C- und H-Bestimmungen:

I. 0,2183 gr. Substanz gaben	0,1462 gr. H_2O	=	7,45 % H,
	0,4282 gr. CO_2	=	53,59 % C.
II. 0,2171 gr. Substanz gaben	0,1484 gr. H_2O	=	7,58 % H,
	0,4228 gr. CO_2	=	53,12 % C.
III. 0,1882 gr. Substanz gaben	0,1298 gr. H_2O	=	7,66 % H,
	0,3674 gr. CO_2	=	53,24 % C.

N-Bestimmung:

0,2834 gr. Substanz gaben bei Barom. 771,5 mm., t. 19,3°, Vol. 38,0 cbcm. = 15,63% N.

Im Mittel berechnet sich die Zusammensetzung der nach der beschriebenen Methode dargestellten Präparate, die ich als Präparat I bezeichnen will, folgendermassen:

C 53,33, H 7,56, N 15,63, O (S, P, Fe) 23,48.

Die qualitative Untersuchung hatte ausser Schwefel auch die Gegenwart von Phosphor und Eisen im Eiweissmolekül ergeben, von deren quantitativer Bestimmung aus Mangel an Substanz aber vorerst abgesehen werden musste und die nach obigem Verfahren sich auch nicht leicht in genügender Menge beschaffen liess. Dieser Umstand einerseits, anderseits die Umständlichkeit des Verfahrens, dessen verschleppender Gang nicht blos grosse Opfer an Material, sondern auch an Zeit erforderte, drängten nach einer Verbesserung der Darstellungsmethode.

Bei näherer Betrachtung musste die Gegenwart des aus den Eiern mit in die Präparate übergeführten Fettes besonders hinderlich erscheinen; denn durch das anhaltende Zerreiben der Eier wurde unter Vermittelung von Eiweiss, das als mechanisches Bindemittel zwischen Fett und Wasser fungirte, nach allen Regeln der Kunst eine Emulsion angefertigt, durch welche einestheils ein Theil des Eiweisses eo ipso der Fällung mit Wasser entzogen, anderntheils das Niederfallen des übrigen Eiweisses gehemmt und namentlich das Filtriren der Lösungen erschwert wurde. Dass diese Voraussetzung richtig war, stellte sich durch die Erfolge des in diesem Sinne abgeänderten Verfahrens heraus. Anstatt das durch Auspressen erhaltene, colirte Rogenextract zu filtriren, wurde dasselbe zur Entziehung des Fettes im Scheidetrichter mit Aether ($^1/_4$—$^1/_6$ Vol.) einigemale leicht umgeschüttelt und sodann der Ruhe überlassen. Nach 2—3 Stunden hatte sich die trübe Mischung in eine klare, braungelbe, jedoch stark weiss opalisirende[1]), leicht filtrirbare untere Schichte und in eine schaumige, schmutziggelbe, ätherische obere Schichte getrennt. Die wässerige, flott filtrirende Flüssigkeit wurde nun in der früheren Weise durch Verdünnen mit Wasser und Einleiten eines Kohlensäurestroms behandelt, wobei alsbald ein sich rasch zu Boden setzender, röthlichweisser, feinpulveriger Niederschlag entstand, der auf dem Filter gesammelt, mit Wasser durch mehrmaliges Aufgiessen ausgewaschen, mit Alkohol wiederholt digerirt und endlich mit Aether vollends erschöpft wurde. Die noch feuchte, vom Filter sich leicht ablösende gelbliche Masse wurde mit dem Spatel in kleine Stücke zertheilt und unter der Luftpumpe

[1]) Die auffallende Opalescenz liess die Gegenwart von Glycogen vermuthen, auf dessen Nachweis ein besonderer Versuch gerichtet wurde. 20 gr. mit Sand zerriebenen Rogens wurden auf dem Dampfbad mit Wasser ausgelaugt, filtrirt und abwechselnd mit Jodquecksilberjodkalium und Salzsäure tropfenweise so lange versetzt, als Niederschläge entstanden. Das Filtrat, mit dem gleichen Volumen Alkohol versetzt, liess nach einiger Zeit einen Niederschlag fallen, der auf dem Filter mit heissem Wasser gelöst, das klare Filtrat aber mit Jodlösung versetzt wurde. Die negativ ausfallende Reaction ergab, dass in den Karpfeneiern keine Spur von Glycogen vorhanden war.

getrocknet. Die beim Abdunsten des Aethers rein weiss gewordenen Stücke zerfielen beim Zerreiben in ein zartes, lockeres Pulver, das beim Trocknen bei 110° eine gelbliche Farbe annahm. Die Ausbeuten nach der so modificirten Darstellungsweise steigerten sich bis zu 8% des Gewichts des in Arbeit genommenen Rogens. Gleichwie der nach der ersteren Methode gewonnene Eiweisskörper enthielt auch dieser, den ich als Präparat II bezeichne, neben Schwefel auch Phosphor und Eisen, und dass er mit jenem überhaupt identisch ist, zeigen die aus seiner Analyse resultirenden Werthe.

C- und H-Bestimmungen:

I. 0,2208 gr. Substanz gaben { 0,1520 gr. H_2O = 7,64% H, 0,4222 gr. CO_2 = 53,56% C.

II. 0,2221 gr. Substanz gaben { 0,1556 gr. H_2O = 7,78% H, 0,4358 gr. CO_2 = 53,49% C.

N-Bestimmung:

0,2356 gr. Substanz gaben bei Bar. 761,5 mm., t. 18,3°, Vol. 31,9 cbcm. = 15,64% N.

Die Veraschung grösserer Substanzmengen zum Zwecke der Bestimmungen von Schwefel, Phosphor und Eisen wurde meist in der Weise ausgeführt, dass die Substanz mit der annähernd gleichen Menge von Soda und wenig Salpeter durch vorsichtiges Erhitzen erst verkohlt, dann die schaumig-poröse Kohle durch weiteren Zusatz der 3—4fachen Menge Salpeters vollständig verbrannt wurde. Dieses nachträgliche Zusetzen des Salpeters empfahl sich aus dem Grunde, weil bei directem Veraschen mit grösseren Salpetermengen auch beim vorsichtigsten Anwärmen sich eine so stürmische Verbrennung einleitete, dass ein Verlust an Asche nicht zu vermeiden war.

S-Bestimmung:

1,0469 gr. Substanz wurden mit Soda verascht und aus der salzsauren Lösung Schwefel als Baryumsulfat gefällt, und gaben 0,0279 gr. $BaSO_4$ = 0,367% S.

P- und S-Bestimmung:

Aus 2,0395 gr. Substanz wurde Phosphorsäure als Molybdänverbindung gefällt und als Magnesiumpyrophosphat gewogen: 0,0310 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 0,426% P. Im salpetersauren Filtrat wurde die Salpetersäure durch Salzsäure verdrängt, vom abgeschiedenen Molybdänoxyd abfiltrirt und Schwefel als Baryumsulfat gewogen: 0,0687 gr. $BaSO_4$ = 0,448% S.

P- und Fe-Bestimmung:

In 4,0550 gr. Substanz wurde Phosphor wie oben bestimmt: 0,0633 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 0,433 °/₀ P. Aus dem salpetersauren Filtrat wurde die überschüssige Säure verjagt, Eisen mit Ammoniak gefällt und als Oxyd gewogen: 0,0053 Fe_2O_3 = 0,13 °/₀ Fe_2O_3 = 0,091 °/₀ Fe.

Fe-Bestimmung:

Aus der Schmelze von 3,7408 gr. Substanz mit Soda und Salpeter wurde die Salpetersäure durch Schwefelsäure verdrängt, mit Zink reducirt und das Eisen mit Chamäleon titrirt. Es wurden 84 cbcm. der auf $^1/_{100}$-Norm.-Oxalsäure eingestellten Chamäleonlösung verbraucht: 0,004402 FeO = 0,167 °/₀ Fe_2O_3 = 0,117 °/₀ Fe.

Zusammenstellung der Analysen:

	Präparat I. (Nach der ersten Darstellungsweise.)			Präparat II. (Nach der zweiten Darstellungsweise.)						
	C	H	N	C	H	N	S	P	Fe	(Fe_2O_3)
	53,59	7,45	15,63	53,56	7,64	15,64	0,367	0,426	0,091	(0,13)
	53,12	7,58	—	53,49	7,78	—	0,448	0,443	0,117	(0,167)
	53,24	7,66	—	—	—	—	—	—	—	—
Im Mittel:	53,33	7,56	15,63	53,52	7,71	15,64	0,41	0,43	0,10	(0,15)

Die folgende Tabelle gibt die Zusammensetzung des Ichthulins nach den Durchschnittszahlen der vorstehenden Analysen. Vergleichshalber wurden die von Valenciennes und Frémy gefundenen Zahlen für die Zusammensetzung ihres aus Salmenrogen gewonnenen Präparates mit aufgeführt. Ein wesentlicher Unterschied zeigt sich namentlich im Schwefelgehalt, der sich vielleicht von der Verschiedenheit des Rohmaterials herleitet, vielleicht auch daher, dass sie nach ihrer einfachen Darstellungsmethode keinen reinen Körper erhalten hatten. Gleichzeitig glaubte ich auch die von Gobley[1]) schon im Jahre 1850 ausgeführte Analyse seines aus Karpfeneiern gewonnenen «Paravitellins» nicht unterdrücken zu dürfen,

[1]) M. Gobley, Recherches chimiques sur les œufs de carpe. Journ. de Pharm. et de Chimie, IIIe série, T. XVII, 1850, p. 401.

welches in der Zusammensetzung namentlich dem Präparat von Valenciennes und Frémy nahekommt, jedoch nach der rohen Art seiner Gewinnung gleich diesem als ein stark verunreinigtes Ichthulin aufzufassen ist.

	Präparat I.	Präparat II.	Ichthulin nach A. Valenc. u. Frémy.	Paravitellin von Gobley.
C	53,33	53,52	52,5 — 53,3	52,60
H	7,56	7,71	8,0 — 8,3	7,74
N	15,63	15,64	15,2	15,15
O	23,48	22,19	22,7	23,24
S		0,41	1,0	0,90
P		0,43	0,6	0,37
Fe		0,10	—	—
	100,00	100,00	100,00	100,00

Wenn durch die Modification des ersten Darstellungsverfahrens einerseits Zeit und Mühe wesentlich verringert, die Ausbeute an Ichthulin aber verzehn- oder verzwanzigfacht wurde, so lehrt anderseits die genaue Uebereinstimmung der Präparate I und II im Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffgehalt, dass durch dieselbe der Körper nicht verändert wurde, und damit liefert sie einen werthvollen Beleg für seine chemische Individualität.

Nach seinem Phosphorgehalt und seinen Löslichkeitsverhältnissen stellt sich das Ichthulin in die Reihe der Vitelline. Frisch gefällt löst es sich in verdünntem Ammoniak oder Natronlauge, in verdünnter Salzsäure oder Essigsäure mit Leichtigkeit zu wasserhellen bezw. gelb gefärbten Flüssigkeiten. Verdünnte Salzlösungen von Magnesiumsulfat, Chlornatrium, schwefelsaurem, phosphorsaurem oder essigsaurem Natron bewirken zwar vollständige, jedoch schwach opalisirende Lösungen, aus welchen das Vitellin beim Sättigen mit dem betr. Salz wieder mehr oder weniger vollständig abgeschieden wird. Auch durch starkes Verdünnen mit Wasser wird es aus diesen Lösungen wieder abgeschieden, besonders unter Mitwirkung von Kohlensäure. Bei längerem Liegen unter

Wasser verliert es seine Löslichkeit in Salzlösungen. Auf Lackmuspapier wirkt es wie eine Säure. Bezüglich seiner Zusammensetzung ist der, wenn auch geringe, Eisengehalt (0,10 % Fe oder 0,15 % Fe_2O_3) beachtenswerth; doch bietet derselbe keine auffällige Erscheinung, da auch andere, verwandte Eiweisssubstanzen Eisen enthalten müssen, weil ihre, in der Regel durch künstliche Verdauung bewirkten, Spaltungsproducte eisenhaltig sind: so das in vielen Beziehungen dem Ichthulin nahestehende Caseïn der Kuhmilch, ferner die vitellinartige Muttersubstanz des von Bunge[1]) aus dem Hühnerei gewonnenen «Hämatogens» u. a.

Gelegentlich wurde auch die beim Behandeln des Rogenextractes mit Aether im Scheidetrichter entstandene obere Schichte zur Untersuchung herangezogen. In der Centrifuge schleuderte sich eine gelbe Masse von butterartiger Consistenz ab, die zunächst zur Verdrängung eines hartnäckig festgehaltenen Aetherrestes mit verdünntem Alkohol versetzt, dann mit absolutem Alkohol und Aether ausgezogen wurde. Es hinterblieb ein gelblichweisser, Phosphor und Eisen enthaltender Eiweisskörper von der Zusammensetzung C 51,32, H 7,30, N 15,02, O (S + Fe) 25,78, P 0,58; dem Gewichte nach betrug er etwa 50 % der Ausbeute an reinem Ichthulin. Ich möchte denselben seiner Hauptmasse nach als ein mit fremden Körpern verunreinigtes Ichthulin ansprechen, das beim Herauslösen des Fettes aus der Emulsion durch den Aether mit in die Höhe gehoben worden war. Die gelb gefärbten, alkoholischen und ätherischen Waschflüssigkeiten hinterliessen beim Verdunsten neben schleimigen Massen ein dottergelbes Fett, das wieder in Aether aufgenommen, filtrirt und über Soda und Salpeter eingedampft und geschmolzen wurde. Die Schmelze enthielt Phosphorsäure, womit die Anwesenheit von Lecithin, der einzigen, hier in Betracht kommenden, phosphorhaltigen, ätherlöslichen Substanz erwiesen erscheint, und welches in das Fett löslich über-

---

[1]) G. Bunge, Ueber die Assimilation des Eisens. Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. IX, S. 49.

gegangen war[1]). Es ist denkbar, dass dasselbe zuvor mit dem Ichthulin (als Dotterplättchen?) in chemischer Verbindung gestanden war[2]).

Spaltungsproducte des Ichthulins.

Paranucleïn.

Wie Lubavin[3]) zeigte, entstehen bei der verdauenden Einwirkung von Pepsin auf salzsaure Lösungen von Caseïn oder Vitellin Niederschläge, welche bis in die neueste Zeit mit den Nucleïnen identificirt worden sind. In der That haben sie mit den ächten Nucleïnen, den Bestandtheilen des Zellkerns, viele Eigenschaften gemein: wie diese reich an Phosphor, besitzen sie ähnliche Löslichkeitsverhältnisse, zeigen die Kennzeichen einer Säure, sind resistent gegen Pepsinlösung und zerfallen unter dem Einfluss von Alkali in Eiweiss und eine phosphorreiche Säure, welche mit dem analogen Spaltungsproduct der ächten Nucleïne, der Nucleïnsäure, die grösste Aehnlichkeit hat. In einem Punkt unterscheiden sie sich aber wesentlich: während die ächten Nucleïne bei der Spaltung mittelst Säuren stets gewisse Basen (die sog. Nucleïnbasen Guanin, Adenin, Xanthin und Hypoxanthin) liefern, deren Auftreten somit als Kriterium für ihre Qualität gelten kann, zeigen die durch Pepsinverdauung bewirkten, phosphorreichen Spaltungsproducte der Vitelline und Caseïne dieses Verhalten nicht. Demgemäss hat Kossel[4]) zur Unterscheidung von den ächten Nucleïnen für diese Substanzen den Namen «Paranucleïn» vorgeschlagen.

---

[1]) De la graisse phosphorée, nach Valenciennes und Frémy.

[2]) Vergl. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, S. 781.

[3]) Lubavin, Med.-chem. Untersuchungen, herausgegeb. v. Hoppe-Seyler, Heft 4, S. 463. Vergleiche daselbst auch: Hoppe-Seyler, Ueber das Vitellin, Ichthin etc.; ferner: Diakonoff, Ueber die phosphorhaltigen Körper der Hühner- und Störeier, Heft 2; und: Miescher: Ueber die Kerngebilde im Dotter des Hühnereis, S. 502.

[4]) A. Kossel, Ueber die chem. Zusammensetzung der Zelle. Verhandl. d. Physiol. Ges. zu Berlin, Sitzung vom 30. Jan. 1891; abgedruckt in E. du Bois-Reymond's Archiv f. Physiologie, physiol. Abth., 1891, S. 181.

Durch die von Hammarsten gemachte Beobachtung[1]), dass eine klare Lösung des Caseïns, mit Pepsinlösung versetzt, sich allmälig unter Abscheidung dieses nucleïnartigen Körpers trübt, sind die Versuche zur Reindarstellung des Paranucleïns sehr erleichtert worden.

Aus dem Vitellin der Karpfeneier gewinnt man Paranucleïn dadurch, dass frisch gefälltes, nur mit Wasser ausgewaschenes Ichthulin, in 0,1 procentiger Salzsäure gelöst, der Einwirkung künstlichen Magensaftes bei Körpertemperatur während 16—18 Stunden ausgesetzt, der entstandene schmutziggelbe, etwas klebrige Niederschlag centrifugirt, erst mit 50 procentigem Alkohol ausgezogen, hierauf mit absolutem Alkohol und endlich mit Aether erschöpft und unter der Luftpumpe getrocknet wird. Zerrieben stellt es ein äusserst zartes, fast rein weisses, geruchloses Pulver vor, das sich beim Trocknen bei 100—110° schwach gelb färbt. Die Ausbeute betrug im Maximum etwa 4% des in Verwendung genommenen Vitellins. Leicht und klar löslich in Ammoniak und Alkalilauge wird das Paranucleïn durch überschüssige Essigsäure oder Weinsäure vollständig wieder abgeschieden; denn das essigsaure Filtrat gibt auf Zusatz von Salzsäure und Alkohol keine weitere Fällung. Eine Abscheidung von Nucleïnsäure, wie sie Altmann[2]) aus einem aus Vogeleiern gewonnenen Paranucleïn gelang, liess sich also hier nicht ausführen. Beim Glühen bläht es sich, gleichwie Ichthulin, zu einer schwer verbrennlichen Kohle auf, in deren stark sauer reagirender Asche neben Eisen Spuren von Chlor, Calcium und Magnesium nachweisbar sind.

Die geringen Ausbeuten, die auch bei Inangriffnahme relativ grosser Ichthulinmengen erzielt wurden, erschwerten die quantitative Analyse insofern, als für die Einzelbestimmungen stets nur die kleinstmöglichen Substanzmengen ver-

---

[1]) Hammarsten, Zur Frage, ob das Caseïn ein einheitlicher Stoff sei. Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VII, S. 264.

[2]) R. Altmann, Ueber Nucleïnsäuren. Archiv für Anatomie und Physiologie, physiol. Abth., 1889, S. 524.

wendet, manche Bestimmungen am gleichen Präparat nur ein einziges Mal ausgeführt werden konnten. Für die technische Ausführung der Analysen gilt das unter Ichthulin Gesagte.

Präparat I.

C- und H-Bestimmungen:

I. 0,2147 gr. Substanz gaben { 0,1402 gr. H_2O = 7,25 % H, 0,3765 gr. CO_2 = 47,83 % C.

II. 0,2100 gr. Substanz gaben { 0,1341 gr. H_2O = 7,10 % H, 0,3710 gr. CO_2 = 48,13 % C.

Im Mittel: 47,98 % C, 7,18 % H.

N-Bestimmung:

0,2165 gr. Substanz gaben bei Barom. 758 mm., t. 15,9°, Vol. 27,3 cbcm. = 14,66 % N.

S-Bestimmung:

0,4785 gr. Substanz gaben 0,0105 gr. $BaSO_4$ = 0,301 % S.

P-Bestimmung:

0,4995 gr. Substanz gaben 0,0432 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 2,42 % P.

Präparat II.

C- und H-Bestimmung:

0,2042 gr. Substanz gaben { 0,1313 gr. H_2O = 7,15 % H, 0,3275 gr. CO_2 = 47,75 % C.

N-Bestimmungen:

I. 0,2250 gr. Substanz gaben bei Barom. 771 mm., t. 20,3°, Vol. 24,8 cbcm. = 12,65 % N.

II. 0,2106 gr. Substanz gaben bei Barom. 775 mm., t. 18,1°, Vol. 22,8 cbcm. = 12,75 % N.

Im Mittel: 12,70 % N.

P- und Fe-Bestimmung:

1,5523 gr. Substanz wurden mit Soda und Salpeter verascht, Phosphorsäure als Ammoniummolybdophosphat gefällt und als 0,1583 gr. $Mg_2P_2O_7$ gewogen, = 2,85 % P. Im Filtrat wurde die überschüssige Säure verdrängt, mit Wasser aufgenommen, filtrirt, Eisen als basisches Acetat gefällt, letzteres in Salzsäure wieder gelöst, mit Ammoniak gefällt und als Oxyd gewogen: 0,0056 Fe_2O_3 = 0,36 % Fe_2O_3 = 0,252 % Fe.

	Paranucleïn aus Vitellin.		Paranucleïn aus Caseïn. Präparat nach Lubavin.
	Präparat I.	Präparat II.	
C	47,98	47,75	46,4 — 49,7
H	7,18	7,15	6,4 — 6,9
N	14,66	12,70	13,8 — 14,6
O	(+ Fe) 27,46	(+ S) 29,30	— —
S	0,30	—	— —
			I. II.
P	2,42	2,85	1,12 1,07 / 2,11 1,71 / 3,07 2,45 } Fractionirte Fällungen.
Fe	—	0,25 ($0,36\ Fe_2O_3$)	0,59 — 0,80 — 0,94 Fe_2O_3
	100,00	100,00	

Verglichen mit dem Ichthulin erscheint der Procentgehalt an Sauerstoff, Phosphor und Eisen in seinem Paranucleïn wesentlich erhöht, während derjenige der übrigen Elemente, Schwefel am wenigsten, Stickstoff am meisten, herabgedrückt ist. Unter sich verglichen weichen die Präparate des Paranucleïns erheblich im Phosphorgehalt, noch mehr im Stickstoffgehalt von einander ab. In einem anderen Präparat betrug der letztere sogar nur 11,87 %.

Diese Schwankungen in der procentischen Zusammensetzung lassen die chemische Reinheit meiner Präparate bezw. ihre Individualität zweifelhaft erscheinen. Jedenfalls wird man das Paranucleïn — wenn überhaupt als eine einheitliche — als eine überaus leicht veränderliche Substanz betrachten müssen. Lubavin[1]) fand für die Zusammensetzung seines aus Caseïn gewonnenen Paranucleïns ähnliche variirende Verhältnisse, die er dadurch zu erklären suchte, dass er die durch Pepsin bewirkten Niederschläge als Gemenge verschiedenartiger Nucleïne betrachtete und sie dementsprechend durch fractionirte Fällungen zu trennen suchte (vergl. Tabelle). Die Durchschnittswerthe seiner Präparate zeigen mit der Zu-

[1]) Ber., X, S. 2237, Ref. von G. Wagner.

sammensetzung meiner aus Ichthulin gewonnenen Präparate im Grossen und Ganzen eine so unverkennbare Uebereinstimmung, dass in Verbindung mit ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften auch die Paranucleïne in ähnlicher Weise wie ihre Muttersubstanzen, Caseïn und Vitellin, als analoge Körper gelten müssen.

Bei der künstlichen Verdauung des Vitellins der Karpfeneier tritt neben Paranucleïn auch Lecithin auf, welches beim Verdampfen der filtrirten alkoholischen und ätherischen Waschflüssigkeiten zurückbleibt und durch den Nachweis seiner Zersetzungsproducte[1]) — Fettsäuren, Glycerinphosphorsäure und Cholin (als Platindoppelsalz) — erkannt wird. Da aber zu den Pepsinversuchen lösliches, d. h. nur mit Wasser ausgewaschenes Vitellin verwendet worden war, so blieb die Frage unentschieden, ob das Lecithin als dessen Zersetzungsproduct aufzufassen sei, oder ob dasselbe nicht vielmehr als Begleiter des rohen Ichthulins aus den Karpfeneiern (in welchen es, wie oben gezeigt wurde, enthalten ist) mechanisch in die Pepsinlösung hineingebracht worden sei. Um sich darüber Gewissheit zu verschaffen, wurde mit Alkohol und Aether völlig erschöpftes, nunmehr coagulirtes Ichthulin mit 0,2procentiger Salzsäure angerührt und in der üblichen Weise verdaut. Zwar liessen sich neben Paranucleïn auch jetzt Fettsäuren und Phosphorsäure nachweisen, dagegen kein Cholin. Es musste also durch Pepsinwirkung aus Ichthulin noch ein Phosphor und Fettsäuren enthaltender, dem Lecithin vielleicht ähnlicher Körper abgespalten werden. Man konnte hierbei an Protagon denken, auf dessen eventuellen Nachweis ein zweiter Versuch gerichtet wurde. Derselbe wurde nach einem von Herrn Prof. Kossel angegebenen Verfahren in der Weise ausgeführt, dass Ichthulin mit 85procentigem, heissem Alkohol erschöpft, letzterer durch Aether verdrängt und nach dessen Abdunsten wie zuerst verdaut wurde. Durch die fast vollständige Löslichkeit in verdünntem Ammoniak konnte ich mich überzeugen, dass das Verdauungsproduct zum grössten

---

[1]) Hoppe-Seyler, Chem. Analyse, V. Aufl., S. 168.

Theil aus Paranuclein bestand. Dasselbe wurde wieder mit 85procentigem, heissem Alkohol ausgezogen, die Auszüge zur Syrupconsistenz eingeengt, in Methylalkohol gelöst und mit einer gesättigten Lösung von Aetzbaryt in Holzgeist während 10 Minuten auf dem Wasserbade digerirt. Der hierbei entstehende Niederschlag wurde zum Nachweis des aus Protagon entstandenen Cerebrins zunächst in Wasser zertheilt, durch dasselbe längere Zeit Kohlensäure geleitet, filtrirt, der Filterrückstand mit heissem Alkohol ausgezogen, wieder filtrirt und die neben Baryumcarbonat zurückbleibenden Barytseifen auf Fettsäuren geprüft durch Abscheiden derselben mit Salzsäure, Lösen in Aether, Ausschütteln mit Natronlauge und Wiederabscheiden mit Salzsäure. Das alkoholische Filtrat wurde eingedampft, der Rückstand mit conc. Schwefelsäure verrieben, in siedendes Wasser eingetragen und 5—10 Minuten lang mit letzterem gekocht. Die filtrirte Flüssigkeit reducirte alkalische Kupferösung. Daher glaubte ich, die reducirende Substanz unter Berücksichtigung ihrer Entstehungsverhältnisse als aus Protagon bezw. Cerebrin entstandene Galactose ansehen zu dürfen. Doch stellt der nachfolgende Versuch diese Schlussfolgerung in Frage, weil er zeigt, dass das Paranuclein ebenso wie das Nuclein der Hefe ein zuckerartiges Spaltungsproduct liefert.

In dem schon citirten Sitzungsbericht machte Herr Prof. Kossel die interessante Mittheilung, dass die aus Hefe dargestellte Nucleinsäure nach längerem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure ausser freier Phosphorsäure und Nucleinbasen verschiedene Spaltungsproducte liefere, von welchem das eine mit neutralem, das andere mit basischem Bleiacetat Niederschläge gebe, und dass nach seinem chemischen Verhalten das letztere in das Gebiet der Kohlehydrate gehöre.

Gelänge es, auch aus thierischem Eiweiss diesen Körper abzuspalten, so wäre die Lösung der physiologisch wichtigen Frage nach der Bildung von Kohlehydraten im Thierkörper aus Eiweisssubstanzen insofern näher gerückt, als wenigstens einmal experimentell die Möglichkeit dieser Umwandlung erwiesen wäre. Die engen Beziehungen zwischen Nucleinen und Paranucleinen liessen eine ähnliche Spaltbarkeit der letzteren

erhoffen, und so führte ich denn einen Parallelversuch mit aus Ichthulin dargestelltem Paranucleïn aus.

Zwei Gramm sorgfältig mit Wasser, Alkohol und Aether ausgewaschener Substanz wurden erst längere Zeit mit stark verdünnter Schwefelsäure am Rückflusskühler gekocht, abfiltrirt, die gelbbraune Lösung wieder mit concentrirterer Schwefelsäure (1 : 5) in der vorigen Weise erhitzt, die Säure mit Baryt zum grösseren Theil ausgefällt, genau mit Natronlauge neutralisirt, hierauf das Filtrat mit überschüssigem, neutralem Bleiacetat versetzt und das Filtrat dieses Niederschlages mit basischem Bleiacetat gefällt. Der letztere Niederschlag, mit Schwefelwasserstoff in Wasser zerlegt, lieferte beim Eindampfen des Filtrats einen fast farblosen, pulverigen Rückstand, welcher alkalische Kupferlösung energisch reducirte. Er enthielt, jedenfalls als mechanische Verunreinigung, minimale Spuren von Phosphorsäure. Eine Probe der reducirenden Substanz, mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat etwa eine Stunde im Dampfbade erwärmt, lieferte gut ausgebildete, doppelbrechende Krystallnadeln, zu strahlig angeordneten Büscheln vereinigt.

Nach diesem Verhalten konnte es nicht zweifelhaft sein, dass das von Kossel aus Hefenucleïn gewonnene Kohlehydrat oder wenigstens ein diesem ähnlicher Körper auch hier vorlag und dass somit in der That bei der Spaltung des thierischen Vitellins bezw. Paranucleïns reducirende Kohlehydrate gebildet werden.

Ueber ein Verfahren zum Enteiweissen des Blutes für die Zuckerbestimmung.

Von

Dr. M. Abeles.

(Aus dem Laboratorium für angew. medicin. Chemie in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 21. April 1891.)

Bei den Untersuchungen über den Zuckergehalt des Blutes hat man sich seither zum Enteiweissen des letzteren verschiedener Methoden bedient. Neben dem auch von Seegen geübten Schmidt-Mühlheim'schen Verfahren mit Natriumacetat und Eisenchlorid ist noch die alte Methode von Claude Bernard vielfach in Gebrauch, die im Erhitzen des Blutes in einer mit Essigsäure angesäuerten Glaubersalzlösung besteht. Statt Natriumsulfat nimmt man wohl auch Kochsalz oder coagulirt einfach durch Eingiessen in mit Essigsäure angesäuertes Wasser und Aufkochen.

Es liegen aus jüngster Zeit einige Arbeiten vor, die sich mit der Brauchbarkeit der genannten Methode beschäftigen. Barral[1]) gibt an, dass die Fällung mit Natriumsulfat gute Resultate gebe, nur müsse man, wenn es sich um den Zuckergehalt des lebenden Blutes handle, das Blut direct aus dem Blutgefässe des Thieres in siedende Salzlösung rinnen lassen und nicht, wie Cl. Bernard gethan, erst mischen und dann erhitzen, weil sonst das «glycolytische Ferment» (Lepine) Zeit habe, seine Wirkung geltend zu machen, und man somit zu wenig Zucker erhalte.

[1]) Sur le sucre du sang, son dosage etc. Paris, Baillière, 1890.

Fritz Schenk[1]) hat defebrinirtem Blute gewogene Zuckermengen zugesetzt, dann das Blut in mit Essigsäure angesäuertes siedendes Wasser gegossen und im eingeengten Filtrat den Zucker mit Knapp'scher Lösung titrirt. Die gefundenen Zuckermengen blieben stets bedeutend hinter den zugesetzten zurück, es ergaben sich Verluste bis zu 80 %. Durch nachträgliches Aufkochen des Coagulums mit verdünnter Salzsäure liess sich noch Zucker extrahiren, wodurch die Verluste bis auf 3 % herabgedrückt wurden und sich in einem Falle sogar ein kleines Plus ergab. Fr. Schenk schloss aus seinen Analysen, dass der zugesetzte Zucker zum Theil mit einem Eiweisskörper eine Verbindung eingehe, die erst durch Kochen mit Salzsäure wieder gesprengt werde.

In einer zweiten Arbeit widerruft Fr. Schenk[2]) diese Ansicht, nachdem er im Blute, das er mit Kaliumquecksilberjodid und Salzsäure enteiweisst, den zugesetzten Zucker nahezu wieder gefunden und ausserdem sich auf indirectem Wege, nämlich durch Dialysiren von Eiweisslösungen mit oder ohne Zuckerzusatz gegen Wasser oder Zuckerlösungen und Untersuchung der Dialysate überzeugte, dass die supponirte Verbindung nicht bestehe.

Die Angaben Fr. Schenk's in seiner ersten Publication veranlassten Röhmann[3]), der sich seit Langem mit Untersuchungen des Zuckergehaltes von Blut und Lymphe befasst, nochmals die von ihm geübte Methode, nämlich Coaguliren des Blutes mit angesäuerter Glaubersalzlösung auf ihre Genauigkeit zu prüfen. In 4 Versuchsreihen, welche mit defebrinirtem Rinds- und Hundeblut, sowie mit Carotisblut vom Hunde angestellt wurden, bestätigt Röhmann, dass von dem dem Blute zugesetzten Zucker ein beträchtlicher Theil verloren gehe, wenn auch lange nicht so viel als bei Fr. Schenk. Es ergaben sich Verluste von 3,6 % bis 24 %, wobei jedoch der

---

[1]) Ueber d. Verhalten des Traubenzuckers zu den Eiweisskörpern des Blutes, Pflüger's Archiv, Bd. 46.

[2]) Pflüger's Archiv, Bd. 47.

[3]) Ueber d. Bestimmung d. Zuckers im Blute, Centralbl. f. Phys., Bd. 4, No. 1.

natürliche Zuckergehalt des verwendeten Blutes, der allerdings stets unter 0,05 in 50 cbcm. betrug, nicht mit berücksichtigt ist. Die im Vergleiche zu Fr. Schenk auffallend besseren Resultate erklärt Röhmann daraus, dass er die Coagula gründlicher auswasche. Er meint, dass die Methode trotz aller Fehlerquellen für vergleichende Analysen ganz brauchbar sei.

Seegen[1]) weist an der Hand seiner ungemein zahlreichen Einzelversuche, die er im Laufe der letzten Jahre ausgeführt[2]), nach, dass es möglich sei, viel genauere Resultate zu erzielen, als dies Röhmann gelungen. Die Analysen mit Blut aus denselben Gefässgebieten zeigen eine gute Uebereinstimmung und bei den Versuchen mit Zuckerzusatz, die Seegen anlässlich seiner Studien über den Einfluss der Respiration auf den Zuckergehalt des Blutes angestellt, fand er in 9 von 16 Fällen den ganzen Zucker wieder. Seegen bedient sich zwar der Schmidt-Mühlheim'schen Methode, überzeugte sich aber, dass man auch nach Schenk beziehungsweise Röhmann zum Ziele gelange, wenn man nur die Niederschläge gründlich auswasche.

Ich habe zwei Versuche mit Glaubersalz angestellt und mich dabei an die Vorschriften von Röhmann gehalten, nur dass ich das mit heissem Wasser ausgewaschene Coagulum auch noch auspresste. Das verwendete Blut war durch 8tägiges Stehen vollkommen zuckerfrei gemacht worden. Im ersten Versuche wurden zu 50 cbcm. 0,100 Zucker zugesetzt und davon 0,096 wieder gefunden. Im zweiten Versuche wurden zu 50 cbcm. 0,200 Zucker zugesetzt und davon nur 0,170 wieder gefunden. Die Verluste betrugen somit 4% resp. 15%

Ueber die Schmidt-Mühlheim'sche Methode hatte ich schon bei früheren Gelegenheiten[3]) Erfahrung gesammelt. Auch ich halte sie für die relativ zweckmässigste unter den bislang gebräuchlichen, sie theilt aber mit diesen gewisse sehr

[1]) Zur Zuckerbest. d. Blutes, Centralbl. f. Physiol., Bd. 4, No. 8.
[2]) Zuckerbildungen im Thierkörper.
[3]) Zur Frage d. Zuckerb. i. d. Leber, Wien. med. Jahrbücher, 1887.

störende Mängel. Will man die Coagula gründlich erschöpfen, ist man genöthigt, sie wiederholt auszuwaschen und auszupressen. Man hat es dann mit einem mehrere Liter betragenden Filtrate zu thun, welches, wenn man 50 cbcm. Blut in Arbeit genommen, 50 bis 70 Milligramm Zucker enthält, und wenn auch das lange Eindampfen nicht schaden mag, so ist die Manipulation mit so grossen Flüssigkeitsmengen der Genauigkeit jedenfalls nicht förderlich.

Weiters geht bei der Schmidt-Mühlheim'schen Methode die Coagulation zwar in der Regel sehr gut vor sich, es kommen aber auch nicht selten Ausnahmen vor. Ohne dass man an dem oft geübten Verfahren etwas geändert hätte, scheiden sich bisweilen die Eiweisskörper schlecht ab und die Flüssigkeit geht langsam und trüb durch's Filter. Die eingeengten Lösungen, die man schliesslich zur Titrirung verwendet, sind meist stark gefärbt. Trotz dieser Färbung verlaufen jedoch die Titrationen gewöhnlich gut und der Endpunkt lässt sich bestimmen. Bisweilen aber ereignet sich das Gegentheil, d. h. das ausgeschiedene Kupferoxydul setzt sich nicht ab, oder es thut dies zwar, aber die darüber stehende Flüssigkeit zeigt mehr oder weniger starke Biuretreaction und verhindert so das richtige Erkennen des Endes der Titration.

Es mir gelungen, zur Abscheidung der Eiweisskörper aus dem Blute ein neues Verfahren ausfindig zu machen, welches bei genügender Genauigkeit leicht durchzuführen ist und mittelst dessen man solche Lösungen darstellt, in denen sich der Zucker ausnahmslos leicht und sicher maassanalytisch bestimmen lässt.

Dasselbe besteht im Wesentlichen darin, dass die Eiweisskörper des Blutes mit einer alkoholischen Lösung von Zinkacetat (oder Chlorzink) ausgefällt werden.

Im Einzelnen ist der Vorgang folgender:

Man bereitet sich vor Allem eine Lösung von Zinkacetat in absolutem Alkohol, wozu ein dem zu untersuchenden Blute gleiches Volumen von absolutem Alkohol und 5°/₀ vom Gewichte dieses Blutes an Zinkacetat verwendet werden, d. i.

also 0,05 gr. des letzteren auf 1 gr. Blut. Die dadurch entstehende trübe Flüssigkeit wird nicht filtrirt, sondern sammt dem darin suspendirten ziemlich reichlichen Niederchlage direct verwendet, da der letztere erfahrungsgemäss für die vollständige Abscheidung der Eiweisskörper von Bedeutung ist.

Nimmt man statt des absoluten Alkohols 90—95 % Alkohol, so ist entsprechend mehr zu verwenden; ein Plus von Alkohol schadet nichts, wohl aber ist eine zu geringe Menge desselben ungünstig.

Will man Blut des lebenden Thieres in möglichst unverändertem Zustande untersuchen, so bringt man, wenn man, wie gewöhnlich, etwa 50 cbcm. Blut verwendet, die Lösung von Zinkacetat in ein kleines Becherglas, in welchem ein für allemal ausgewerthet worden ist, bis zu welcher Höhe ein Gemenge des verwendeten Alkoholvolumens mit 50 cbcm. Wasser reichen, wägt dasselbe, lässt dann das Blut aus der Arterie oder Vene des Thieres bis zur markirten Höhe einfliessen und wägt wieder. Ist dabei die Höhenmarke zufällig überschritten worden, so kann man nachträglich, nachdem man gewogen, noch so viel alkoholische Zinklösung zusetzen, als dem Plus an Blut entspricht.

Das Blut wird bei dem Contacte mit dem Alkohol im ersten Augenblicke hellroth, nimmt aber schon nach wenigen Minuten eine dunkle braun- bis schwarzgraue Färbung an. Diese Farbenveränderung wird durch Umrühren mit einem Glasstabe gefördert. Die Coagulation und die Aufschliessung der Blutkörperchen ist erst dann als vollkommen anzusehen, wenn der Niederschlag eine gleichmässige schwarzgraue Masse bildet, in der sich keine rothen Blutklümpchen finden. Zum Zwecke der sicheren Zerstörung der Blutzellen habe ich anfangs das Blut auch mit Aether lackfarben gemacht, bin aber später davon abgekommen, weil kein erkennbarer Vortheil zu constatiren war.

Man filtrirt nun durch ein mit Alkohol angefeuchtetes Faltenfilter, wäscht mit 90—95 % Alkohol nach, bringt den Rückstand auf ein mit Alkohol angefeuchtetes Stück Lein-

wand und presst mit der Handpresse scharf aus. Der Pressrückstand wird, so gut es geht, aus dem Papier geschält und in einer Schale mit dem Pistill zerdrückt, dann mit Alkohol zu einem feinen Schlamm zerrieben und auf ein neues Faltenfilter gebracht. Auch das abgelöste Papier wird mit den daran haftenden Resten des Coagulums in Alkohol zerrieben, dieser, sowie der durch das Auspressen gewonnene gleichfalls auf's Filter gebracht, nachgewaschen, die Masse nochmals ausgepresst und die abrinnende Flüssigkeit, wenn nöthig, filtrirt mit den früheren Filtraten vereinigt.

Die gesammten, gewöhnlich etwas trüben Flüssigkeiten enthalten überschüssiges Zink, welches man mit kohlensaurem Natron ausfällt. Man verwendet dazu zweckmässig eine concentrirte Lösung desselben (1 : 5) und setzt davon unter Umrühren so lange zu, bis deutliche alkalische Reaction nachweisbar ist. Das ausfallende kohlensaure Zink, sowie das überschüssige herausfallende kohlensaure Natron klären die Lösung. Bei dem nun folgenden Filtriren geht das Filtrat vollständig klar und beinahe immer farblos durch, trübt sich aber oft nachträglich von später sich ausscheidendem kohlensaurem Zink, was aber für den weiteren Vorgang nicht hinderlich ist. Das Filtrat, welches (bei 50 cbcm. Blut) gewöhnlich 250 cbcm., höchstens 300 cbcm. beträgt, wird mit Essigsäure schwach angesäuert und auf 20 bis 30 cbcm. eingedampft, wobei sich zum Schluss, nachdem der Alkohol verjagt ist, noch etwas Unlösliches ausscheidet, das zum Theile der Wand der Schale anhaftet, zum Theile in Form von Tropfen auf der Flüssigkeit schwimmt. Man spült nun die Flüssigkeit in einen Maasscylinder, setzt neuerdings 3—4 Tropfen einer concentririten wässrigen Lösung von Zinkacetat oder Chlorzink zu und versetzt mit kohlensaurem Natron bis zum Eintritt alkalischer Reaction. Sodann füllt man bis auf das ursprüngliche Volumen auf und filtrirt durch ein trockenes Filter. Das Filtrat kann sofort zum Titriren verwendet werden. Es ist nur schwach gelb gefärbt, gibt mit Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid keine Trübung und enthält nur eine Spur von kohlensaurem Zink, die sich übrigens beim Stehen von

selbst abscheidet und von der man die Lösung durch Abgiessen oder nochmaliges Filtriren durch ein kleines trockenes Filter befreien kann. Für's Titriren ist indessen die kleine Beimengung von Zink gleichgiltig, da es sich in der Lauge löst und nicht weiter stört.

Der durch den letzten Zusatz von kohlensaurem Natron entstehende Zinkniederschlag schliesst, wie ich mich überzeugt habe, keinen Zucker ein, sondern enthält davon nur so vicl, als der anhaftenden Flüssigkeit entspricht. Wäscht man nämlich aus und löst den Niederschlag in Salzsäure, so erhält man mit der Fehling'schen Lösung keine Reduction mehr.

Die Methode, die nach der Beschreibung complicirt und und langwierig erscheinen mag, ist in der Praxis einfacher und schneller durchführbar als die bisher gebräuchlichen. Einigermassen zeitraubend ist das Zerreiben und neuerliche Auspressen des Blutkuchens. Es ist aber nicht rathsam, es zu unterlassen. In zwei Untersuchungen, die zu diesem Zwecke angestellt wurden, hat sich herausgestellt, dass durch das zweite Auswaschen und Auspressen circa 8 % des Gesammtzuckers gewonnen werden, die sonst verloren wären. Ein drittes Auswaschen ist überflüssig. Wiederholte Untersuchungen haben gelehrt, dass bei sorgfältigem Arbeiten sich aus dem zweiten Pressrückstand weder mit Alkohol noch durch Aufkochen im Wasser eine bestimmbare Menge reducirender Substanz extrahiren lasse.

Es wurden Analysen ausgeführt mit defebrinirtem Pferdeblut und mit frischem Blute aus der Carotis vom Hunde mit und ohne Zusatz von gewogenen Zuckermengen. Ferner wurde die Methode geprüft an Blut, das entweder durch 8tägiges Stehen oder durch mehrtägige Dialyse in strömendem Wasser vollständig zuckerfrei gemacht und mit bekannten Zuckermengen versetzbar war. Es ergab sich, dass im letzten Falle, nämlich wenn zu entzuckertem Blute eine gewogene Zuckermenge zugesetzt war, derselbe nahezu ganz wiedergefunden wurde. Auch beim defebrinirten Blute sind die Verluste nicht wesentlich grösser und nur beim nativen Blute aus der Carotis

zeigen sich erhebliche Differenzen. Namentlich ist es auffallend, dass man mehr Zucker finden kann, als dem Zusatz plus dem Blutzucker entspricht. Es geht daraus hervor, dass die einzelnen aus dem Gefässe ausströmenden Portionen nicht gleichen Zuckergehalt haben, selbst wenn sie rasch nach einander aufgefangen werden. Ob diese Schwankungen durch die besonderen Bedingungen, unter denen sich das Thier während der Blutentnahme befindet, erzeugt werden oder ob sie einen physiologischen Zustand darstellen, lässt sich nicht entscheiden, doch mahnt die Thatsache neuerdings, aus kleinen Differenzen im Zuckergehalte mehrerer Blutproben keine weitgehenden Schlüsse zu ziehen.

Ueber die Grenzen der Genauigkeit gibt beifolgende Tabelle (Seite 503) eine Uebersicht.

Die Analysen wurden im Anfange mit Chlorzink, später mit essigsaurem Zink ausgeführt. Die Endresultate sind bei beiden gleich, jedoch hat essigsaures Zink mehr entfärbende Kraft, weshalb ich es vorziehe. Ich habe auch andere in Alkohol lösliche Metalle auf ihre Verwendbarkeit geprüft. Die Cadmiumsalze leisten dasselbe, wie die Zinksalze, Blei und Eisen stehen dem Zink[1]) nach.

Die Methode ist zunächst mit Rücksicht auf Zuckerbestimmungen ausgearbeitet, sie dürfte aber auch für andere im Blute enthaltene in Alkohol lösliche Körper, z. B. Harnstoff, zu brauchen sein. Für die Zuckerbestimmung hat sie folgende Vortheile:

1. Die alkoholische Zinklösung sistirt im Blute jeden wie immer gearteten Lebensvorgang, der auf den Zucker Einfluss haben könnte, was nach den älteren Methoden nicht, oder doch nicht in so einfacher Weise, möglich ist.

---

[1]) Die Herren E. Freund und Landsteiner haben in genanntem Laboratorium schon früher zu anderen Zwecken Zinksulfat, das sie dann mit phosphors. Natron ausfällten, zum Enteiweissen des Blutes benützt, ohne aber den Gegenstand weiter zu verfolgen.

No. des Versuchs.	Art des Blutes.	Blutmenge in Gramm.	Zugesetzter Zucker in Gramm.	Gefundener Zucker in Gramm.	Differenz in Gramm.	Differenz in Proc.	Anmerkung.
Ia.	Defebrinirtes Pferdeblut	50 50	0 0,051	0,0499 0,0987	— — 0,0022	— — 2,2	—
Ib.	dtto. mit Aether lackfarben gemacht	50 50	0 0,051	0,0493 0,0977	— — 0,0026	— — 2,6	—
II.	Defebrinirtes Pferdeblut	52,5 52,7 54,0	0 0,240 0,400	0,051 0,275 0,455	— — 0,016 + 0,003	— — 6,6 + 0,7	—
III.	Hundeblut aus der Carotis	54,6 64,3 51,6	0 0 0	0,070 0,083 0,069	— + 0,003 + 0,003	— + 4,3 + 4,4	—
IV.	dtto.	58,6 50,5 55,4	0 0,051 0,051	0,070 0,115 0,119	— + 0,004 + 0,006	— + 3 + 8,1	— Zucker der alkohol. Zinklös. zuges. Zucker dem nativen Blute zuges.
V.	dtto.	61 97,2	0 0,051	0,061 0,148	— — 0,011	— — 11,3	—
VI.	dtto.	61 50,9 60,95	0 0,051 0,051	0,060 0,0111 0,0110	— + 0,0097 — 0,0012	— + 8,7 — 1	— Zucker der alkohol. Zinklös. zuges. Zucker dem nativen Blute zuges.
VII.	Durch Dialyse entzuckertes Blut	70 70	0,051 0,0714	0,0503 0,0697	— 0,0007 — 0,0023	— 1,3 — 3,2	—
VIII.	Durch 8tägiges Stehen entzuckertes Blut	70 70	0,051 0,0714	0,0488 0,0710	0,0022 0,0004	— 4,3 — 0,5	—

2. Die Enteiweissung geht in der Kälte vor sich und die resultirende Zuckerlösung wird relativ nur kurze Zeit während des Abdampfens der geringen Flüssigkeits-keitsmenge erhitzt.
3. Die zum Titriren verwendeten Lösungen sind klar, sehr wenig gefärbt und vollständig eiweissfrei. Die Titrationen vollziehen sich in Folge dessen ausnahmslos ebenso leicht, als ob es sich um eine reine wässrige Zucker-Salzlösung handelt. Niemals kommt es vor, dass ein Versuch wegen Undeutlichkeit des Endpunktes ein unsicheres Resultat gäbe.
4. Wird die Genauigkeit der Methode von keiner anderen übertroffen, sehr oft nicht erreicht. Es unterliegt keinem Zweifel, dass man auch nach den älteren Methoden oft wünschenswerthe Genauigkeit erzielen kann, sie lassen aber auch oft im Stich.

Beiträge zur Alkalimetrie des Blutes.

Von

Hugo Winternitz.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Strassburg.)

(Der Redaction zugegangen am 23. Juni 1891.)

Die Schwierigkeiten, welche sich einer genauen Alkalescenzbestimmung des Blutes entgegenstellen, sind aussserordentlich grosse und sie beruhen nicht zum geringsten Theil auf dem Mangel theoretischer Grundlagen, welche für eine exacte Alkalibestimmung des Blutes nothwendig sind. Das Blut stellt ein Basensäuregemenge dar, in welchem Basen und Säuren in höchst complicirter Weise gebunden sind, ohne dass wir ihre Vertheilung und gegenseitige Bindung genau übersehen könnten.

Für die Zwecke physiologischer Forschung hat man sich namentlich solcher Methoden bedient, welche eine Messung der an das Alkali des Blutes gebundenen Kohlensäure gestatten und zwar durch das gasanalytische Verfahren[1]) oder durch Wägung der von Kali absorbirten Kohlensäuremenge[2]).

Eine andere Methode ist die im Wesentlichen von Zuntz[3]) begründete, welche auf einer Titrirung des Alkalis mittels Säure beruht, wobei als Indicator Lakmus Verwendung fand. Zur Titrirung bediente sich Zuntz der Phosphorsäure, welche von Lassar[4]) durch die für Blut zweckmässigere Weinsäure

[1]) Walter, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm., Bd. VII.

[2]) Kraus, ebenda, Bd. XXVI.

[3]) Zuntz, Centralbl. f. d. medicin. Wissensch., 1867, S. 801.

[4]) Lassar, «Zur Alkalezcenz des Blutes», Archiv f. d. gesammte Physiol., Bd. 9.

ersetzt wurde. Landois[1]) und Jaksch[2]) haben dann diese Methode in einer den speciell klinischen Zwecken Rechnung tragenden Weise modificirt.

Da diese Methode nun namentlich in neuerer Zeit ausgedehnte klinische Verwendung[3]) gefunden hat, so habe ich mich auf Veranlassung des Herrn Professor Hoppe-Seyler derselben bedient, um einige in Betracht kommende Fragen einer Prüfung zu unterziehen.

Was die im Allgemeinen gegen alle derartigen Methoden vorgebrachten Einwände betrifft, so sind dieselben, namentlich aus den eingangs erwähnten Gründen, theoretisch wohl berechtigt. Indessen muss gesagt werden, dass die Sache sich in praxi denn doch wesentlich anders gestaltet. Unzweifelhaft wird man zugeben müssen, dass das Lakmus ein ganz brauchbarer Massstab ist, um die aus dem Säure-Basengemenge des Blutes resultirende Gesammtreaction des Blutes zu ermitteln, und dies um so mehr, als die hier namentlich in Betracht kommenden Verbindungen — Natriumcarbonat und Dinatriumphosphat — nach ihrem Verhalten zu Lakmus als alkalische Körper bezeichnet werden. Tritt nun im Blute unter pathologischen Verhältnissen abnorme Säuerung auf, so wird sich die dadurch bedingte Abnahme der Gesammtalkalescenz wohl beurtheilen lassen und den betreffenden Resultaten wird eine relative Richtigkeit nicht abzusprechen sein. Einige allgemeine Beobachtungen, welche sich namentlich auf die Beurtheilung der Endreactien beziehen, deren Schwierigkeit besonders von H. Meyer[4]) betont wird, werde ich erst bei den bezüglichen Versuchen besprechen,

---

[1]) Landois, «Realencyclopädie von Eulenburg», III, 2. Aufl., S. 161.

[2]) v. Jaksch, «Klinische Diagnostik innerer Krankheiten etc.», 1889, S. 3.

[3]) v. Jaksch, «Ueber die Alkalescenz des Blutes bei Krankheiten», Zeitschr. f. klin. Medizin, Bd. XIII, und Peiper, «Alkalimetrische Untersuchungen des Blutes unter normalen u. patholog. Zuständen», Virchow's Archiv f. path. Anat., 116. Bd., 1891.

[4]) H. Meyer, Archiv f. experim. Pathol., Bd. XIII, S. 336, und Bd. XVII, S. 304.

wie sie sich mir im Gange der Untersuchung aufgedrängt haben.

Bei dieser Untersuchung nun habe ich mich jener Form der Methode bedient, die von Jaksch angegeben ist, mit einer Modification, die später zu erörtern sein wird. Das Vorgehen von Jaksch wurde deshalb dem Landois'schen vorgezogen, weil das Blut direct der Carotis der betreffenden Thiere entnommen wurde, daher die Verwendung der Landois'schen Methode nicht am Platze war.

Die Versuchsanordnung war in allen Fällen folgende:

In die frei präparirte Carotis des Thieres — es wurden stets Kaninchen verwendet — wurde eine Canüle eingeführt, an deren Ende sich ein kurzer Gummischlauch befand, der durch einen Quetschhahn verschlossen war. In das Ende dieses Gummischlauches wurde eine 1 cbcm. fassende und bis auf $^1/_{10}$ cbcm. genau graduirte Pipette eingeführt und der Quetschhahn geöffnet. Nach Füllung der Pipette, was bei dem hohen arteriellen Druck sofort geschehen war, wurde das Blut zu je 0,1 cbcm. in die Uhrschälchen vertheilt, in welchen sich die betreffenden Weinsäure-Glaubersalzmischungen befanden. Daneben habe ich auch mehrmals eine grössere Quantität Blut unmittelbar in ein passendes Gefäss aufgefangen und die Alkalescenz durch directe Titrirung mittels einer $^1/_{10}$-Normallösung von Weinsäure aus einer gewöhnlichen Burette vorgenommen.

Die gewonnenen Resultate stimmten stets gut überein, und die Differenz der nach beiden Methoden gefundenen Alkalescenzwerthe betrug, auf 100 cbcm. Blut bezogen, 10—15 mgr. Na(OH), was innerhalb der bei diesen Methoden unerlässlichen Versuchsfehler liegt.

Schon bei den Vorversuchen, welche ich an defibrinirtem Rinderblut anstellte, um mir die Technik der Methode anzueignen, fiel es mir auf, dass die Alkalescenz unverhältnissmässig hoch befunden wurde, und dass das Blut, wenn die Sättigung mit Säure erreicht schien, eine durchsichtige, weinrothe Farbe annahm. Es hatte — wie sich unter dem Mikroskop leicht beobachten liess — eine theilweise Lösung der

rothen Blutkörperchen stattgefunden[1]). Daher die Veränderung der Blutfarbe, und daher auch die scheinbar so hohe Alkalescenz, weil durch die veränderte Blutfarbe die Beurtheilung der Reaction mittels Lakmuspapier unsicher wurde. Dieselbe Beobachtung scheint schon Lassar gemacht zu haben, ohne ihr, wie ich glaube, die richtige Deutung zu geben. Er sagt diesbezüglich[2]): «Um ein bestimmtes Urtheil über den Ausfall der Reaction zu gewinnen, bedarf es allerdings einiger Uebung, weil der durch das NaCl (welches er statt Na_2SO_4 verwendet hat) modificirte Farbstoff alle Nuancen zwischen gelbroth und hochoth zeigt.»

Um diesen Fehler nun auszuschalten, wurde für die angestellten Versuche eine $^1/_{10}$-Normal-Weinsäure angewendet, welche statt in Wasser in concentrirter Natriumsulfatlösung (10procentige Lösung) angefertigt war. Dieser Vorgang vereinfacht auch die Methode, weil man die complicirten Mischungen von Weinsäure mit Natriumsulfat vermeidet[3]). Man beschickt somit einfach die Uhrschälchen mit 0,1, 0,2, 0,3 u. s. w. cbcm. der so angefertigten Normalsäure. Ich will es indessen nicht unterlassen, hervorzuheben, dass bei der Methode von Landois dieser Fehler ohnehin vermieden wird, weil da die betreffenden Weinsäurelösungen mit überschüssigem Natriumsulfat gesättigt sind.

Zur Prüfung der Reaction wurde ein nach der Vogelschen Vorschrift angefertigtes Lakmuspapier empfohlen. Die Blutkörperchen bleiben im Bereich des eingetauchten Streifens und die sich darüber hinausziehende Flüssigkeit zeigt die Reaction an. Ich selbst habe nach mehrfachen vergleichenden Prüfungen ein geleimtes, glattes Reagenspapier benutzt, das gleichfalls nach der Vogel'schen Vorschrift angefertigt wurde. Das Blut, das durch den Zusatz der Säure wesentlich an Zähigkeit verliert, lässt die Reaction deutlich erkennen. Falls

---

[1]) Lépine, «Ueber die Widerstandsfähigkeit der rothen Blutkörperchen gegen Wasser», Centralbl. d. medizin. Wissensch., 1881.

[2]) L. c., S. 44.

[3]) Die in Na_2SO_4 angefertigte Weinsäurelösung erweist sich überdies haltbarer, als die in Wasser angefertigte.

der Blutfarbstoff am Reagensstreifen haften bleibt und die scharfe Erkennung der Reaction hindert, so spült man ihn mit einem Wasserstrahl aus der Spritzflasche ab. Die schwach violette Farbe des Reagensstreifens — Landois vergleicht sie treffend mit der Farbe der Fliederblüthen — zeigt die geringste alkalische Reaction durch Blaufärbung, die saure durch Röthung an. Für eine richtige Beurtheilung der Reaction ist es wichtig, die Blutprobe nur ganz kurze Zeit einwirken zu lassen und die eingetretene Reaction sofort zu beurtheilen, da beim Trocknen des Reagensstreifens an der Luft sich die Farbenunterschiede verwischen, ferner könnte bei längerer Einwirkung die frei werdende Kohlensäure in ziemlicher Breite neutrale Reaction ergeben.

Gewöhnlich findet man, dass 0,1 cbcm. Blut z. B. bei Zusatz von 0,3 Säure alkalisch, bei 0,4 neutral und bei 0,5 sauer reagirt, oder bei 0,3 alkalisch und bei 0,4 schon sauer; in diesen letzteren Fällen wurde dann angenommen, dass der Sättigungswerth für die Alkalescenz in die Mitte fällt.

Stelle ich aus den angestellten Versuchen die normalen Alkalescenzwerthe für Kaninchenblut zusammen, so ergibt sich Folgendes:

	Alkalescenz in Gramm für 100 cbcm. Blut umgerechnet:
	0,200
	0,180
	0,180
	0,160
	0,140
	0,140
Mittel:	0,165

Dass bei der Gerinnung des Blutes die Alkalescenz desselben abnimmt, ist eine wiederholt bestätigte Thatsache. Man hat dies durch das Auftreten einer Säure erklärt, welche dem Natriumcarbonat das Alkali entzieht. Nach Hoppe-Seyler hängt dieser Vorgang zusammen mit dem im Plasma stattfindenden Zerfall von weissen Blutkörperchen.

Aus meinen Beobachtungen glaube ich schliessen zu dürfen, dass diese Alkalescenzabnahme vornehmlich in zwei

Etappen erfolgt, und zwar, sobald das Blut die lebende Gefässwand verlässt, ehe noch die Gerinnung erfolgt, und dann während des Eintrittes der Gerinnung, beziehungsweise nach eingetretener Gerinnung. In der nachfolgenden Tabelle sind einige Zahlen zusammengestellt, welche die Grösse der Abnahme der Alkalescenz veranschaulichen.

Kaninchen. Blut aus der Carotis.	Zeit.	Alkalescenz in Gramm Na(OH) pro 100 cbcm. Blut umgerechnet.	Bemerkungen.
Versuch I.	11 Uhr 55 Min.	0,200	unmittelbar nach d. Entziehung
	12 Uhr	0,180	noch nicht geronnen.
	12 Uhr 10 Min.	0,160	geronnen.
	12 Uhr 25 Min.	0,130	vollständig geronnen.
	12 Uhr 45 Min.	unverändert	—
Versuch II.	11 Uhr 13 Min.	0,180	unmittelbar nach d. Entziehung
	12 Uhr	0,120	geronnen.
Versuch III.	12 Uhr 20 Min.	0,140	Bestimmung um etwa 1 Minute verzögert.
	12 Uhr 28 Min.	0,140	geronnen.
	12 Uhr 40 Min.	0,120	—

In allen diesen Fällen konnte innerhalb der nächsten 24 Stunden eine weitere Alkalescenzabnahme nicht beobachtet werden, noch weniger konnte ich, auch nach längerem Stehen, den Eintritt einer sauren Reaction beobachten. Dafür, dass die Vorgänge, welche zur Alkalescenzabnahme des Blutes führen, statthaben, sobald das Blut die Gefässwand verlässt, und im Wesentlichen nach Eintritt der Gerinnung beendet sind, spricht folgende Beobachtung, die ich mehrfach bestätigen konnte:

Frisches defibrinirtes Rinderblut zeigte, unmittelbar nachdem es aus der Schlachtbank gebracht worden war (am 30./V.), eine Alkalescenz von 0,160 gr. NaOH. Dieser Alkalescenzgrad blieb an den folgenden Tagen vollständig

unverändert (das Blut wurde im Eisschrank aufbewahrt). Am 2. Juni — hier zeigte das Blut schon deutliche Zeichen der Fäulniss — betrug die Alkalescenz 0,220 gr. NaOH und am 4. Juni war die Alkalescenz auf 0,260 gestiegen.

Eine weitere Frage, deren Beantwortung bis nun noch ausstand, war die, ob die Alkalescenz des Blutes noch abnimmt, wenn dasselbe durch die entsprechende Säuremenge neutralisirt ist. In allen diesbezüglichen Versuchen liess sich constatiren, dass eine solche Alkalescenzabnahme nicht mehr statthat, sobald einmal das Blut durch den Zusatz der entsprechenden Säuremenge neutralisirt worden ist.

Die Blutprobe (aus der vorstehenden Tabelle Versuch I), welche um 11 Uhr 55 Min. durch Zusatz von 0,5 cbcm. einer $^1/_{100}$-Normal-Weinsäure neutralisirt worden war, erwies sich um 12 Uhr gleichfalls neutral. Es wurden dem Thiere, nachdem einmal die zur Erreichung der Neutralität nothwendige Säuremenge ermittelt war, 2 cbcm. Blut entzogen und mit 10 cbcm. der $^1/_{100}$-Normalsäure versetzt. Das Blut erwies sich, eine halbe Stunde später geprüft, unverändert neutral.

Um zu prüfen, ob die Abnahme der Blutalkalescenz auch eintritt, wenn die Gerinnung desselben durch Salzlösung verhindert wird, habe ich folgenden Versuch angestellt:

11 Uhr 13 Min.: Kaninchenblut direct aus der Carotis. Die Alkalescenz beträgt 0,180 gr. NaOH.

11 Uhr 35 Min.: geronnenes Blut, Alkalescenz = 0,120 gr. NaOH.

11 Uhr 15 Min.: je 2 cbcm. Blut werden direct aus der Carotis a) in ein Reagensglas gebracht, welches mit 2 cbcm. einer 8procentigen Kochsalzlösung beschickt ist, b) in ein Reagensglas, in welchem sich die gleiche Menge einer 10procentigen Natriumsulfatlösung befindet; a) wurde verschlossen aufbewahrt. Um 12 Uhr wird die Alkalescenz dieser Blut-Salzgemenge geprüft. Dieselbe beträgt übereinstimmend 0,140 gr. NaOH. Die Alkalescenzabnahme wurde sonach durch den Zusatz der Salzlösung nicht verhindert. Vergleicht man dieselbe indess mit der, welche beim geronnenen Blut

eintrat, so ergibt sich, dass die Abnahme in dem Falle, wo die Gerinnung verhindert worden war, geringer ist. Dies dürfte sich am einfachsten so erklären, dass hier nur der erste Factor, welcher für die Abnahme der Alkalescenz massgebend ist, in's Spiel kam.

Eine weitere Untersuchung galt der Frage, ob die Abnahme der Alkalescenz abhängig ist von der Menge des vorhandenen Sauerstoffs. Zur Entscheidung derselben wurde zunächst die Alkalescenz des arteriellen Blutes eines Kaninchens bestimmt (Tabelle, Versuch II und III). Kurze Zeit darauf wurde das Thier durch energische Erdrosselung getödtet, der Thorax geöffnet und das Erstickungsblut durch Einstich in das Herz gewonnen. Die Reaction war die gleiche, wie die des arteriellen Blutes, wenigstens konnte eine Differenz bei der geübten Methode nicht gefunden werden. Da bei allen mit Sauerstoffmangel einhergehenden Todesarten, wie namentlich durch die Arbeiten Araki's[1]) festgestellt ist, Milchsäure im Blute auftritt, und diese natürlich eine Alkalescenzabnahme zur Folge hat, so muss angenommen werden, dass bei dieser energischen Erdrosselung die Zeit der Einwirkung zu kurz ist, als dass es zur Bildung solcher abnormen Säuren im Blute kommen könnte.

Gelegentlich wurde endlich noch die Frage beantwortet, ob die Menge des zugesetzten Natriumsulfats die Reaction beeinflusst, ein Gedanke, der mir naheliegend schien, weil das Natriumsulfat die Blutkörperchen zur Schrumpfung bringt. 0,1 cbcm. Blut wurde durch Zusatz von 0,4 cbcm. $^{1}/_{100}$-Normalsäure neutralisirt. Die Reaction blieb bei Zusatz von 1 cbcm. Natriumsulfat unverändert. Sonach dürfte der Zusatz von Natriumsulfat zu den Blutproben die Richtigkeit des Reactionsausfalles nicht beeinflussen.

---

[1]) Araki, «Ueber die Bildung von Milchsäure und Glykose im Organismus bei Sauerstoffmangel», diese Zeitschr., Bd. 15, Heft 4.

Ueber das Vorkommen von Kohlehydraten im Harn von Thieren[1]).

Von

Ernst Roos.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium des Prof. E. Baumann in Freiburg i. B.)

(Der Redaction zugegangen am 30. Juni 1891.)

Die alte Streitfrage, ob der normale menschliche Harn Kohlehydrate enthält, ist jetzt zu einem endgiltigen Abschluss gebracht und das Vorkommen von geringen Mengen von Kohlehydraten im normalen Menschenharn mit Sicherheit erwiesen. Landwehr führte den ersten positiven Beweis, indem er ein dextrinartiges Kohlehydrat aus normalem Harn darstellte, welches er das «thierische Gummi» nannte. Weiteren Aufschluss über diese Verhältnisse brachte eine vor mehreren Jahren von Baumann[2]) angegebene Methode, welche darauf beruht, dass Kohlehydrate aus wässerigen Lösungen durch die Einwirkung von Benzoylchlorid leicht in Form unlöslicher Benzoylverbindungen ausgefällt werden. Um zu erkennen, ob eine Flüssigkeit Kohlehydrate enthält, braucht man sie nur mit Benzoylchlorid und Natronlauge zu schütteln, und Baumann konnte nachweisen, dass jeder normale Menschenharn, auf diese Weise behandelt, solche Benzoylverbindungen liefert. Genauere Untersuchungen über die Art dieser Benzoylverbindungen stellte Wedenski[3]) an und fand, dass dieselben ein Gemenge von zwei Kohlehydraten darstellen, von denen

---

[1]) Unter gleichem Titel als Inaug.-Dissert. erschienen.

[2]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 19, S. 3218.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIII, 1889, S. 122.

das eine nach seiner Isolirung[1]) sich allen Reactionen gegenüber wie Traubenzucker verhält, das andere mit grösster Wahrscheinlichkeit mit dem thierischen Gummi Landwehr's identisch ist.

Auf anderem Wege bewies v. Udránszky[2]) den Kohlehydratgehalt des normalen Harns und ermöglichte zugleich eine annähernde Abschätzung desselben. Er benutzte zu seinen Untersuchungen die von Molisch[3]) zur Erkennung des Zuckers im Harn angegebene und von ihm als Furfurolreaction erkannte und modificirte Probe mit α-Naphthol und Schwefelsäure. Dieselbe beruht darauf, dass durch die Einwirkung der Schwefelsäure auf ein Kohlehydrat aus diesem Furfurol abgespalten wird und dieses letztere mit α-Naphthol eine schöne, violettrothe Farbe liefert. Jeder normale Menschenharn zeigt diese Reaction. — Zum Zweck der quantitativen Abschätzung der Kohlehydratmenge verdünnt man den Harn so weit, dass er gerade noch die Reaction gibt, und nachdem man bei Zuckerlösungen von bekanntem Gehalt die geringste Concentration ermittelt hat, bei welcher die Reaction noch eintritt, berechnet man den Kohlehydratgehalt durch Vergleich mit der bekannten Zuckerlösung unter Berücksichtigung des Grades der Verdünnung der zu untersuchenden Flüssigkeit. Auf diesem Wege wurde in einer grossen Reihe von Untersuchungen festgestellt, dass der Gehalt des normalen Menschenharns an Kohlehydraten im Allgemeinen zwischen den Procentzahlen 0,075—0,35 % sich bewegt[4]). Doch wurde bei ganz gesunden Personen nach reichlicheren Mahlzeiten, besonders nach Genuss von viel Obst und Amylaceen trotz der durch die gesteigerte Flüssigheitsaufnahme bedingten Verdünnung des Harns nicht selten ein Gehalt von 0,35—0,45 %

---

[1]) Ibidem, S. 126.

[2]) Berichte der Naturforsch. Gesellsch. zu Freiburg i. B., Bd. IV, Heft 5, S. 194.

[3]) Sitzungsbericht d. kaiserl. Akad. d. Wissensch., 93, II, S. 912.

[4]) v. Udránszky, Berichte d. Naturforsch. Gesellsch. zu Freiburg i. B.. Bd. IV, Heft 5, S. 200.

gefunden[1]). Die Kohlehydratausscheidung zeigt ziemlich regelmässige Schwankungen nach den Tageszeiten (durch die Mahlzeiten hervorgerufen) und ist im jugendlichen Alter geringer als bei älteren Personen[2]). Luther trennte den gesammten Kohlehydratgehalt in einen gährungsfähigen Theil, der als Traubenzucker anzusehen ist, und in einen nicht gährungsfähigen Rest, welcher das thierische Gummi enthält. Die Menge des letzteren beträgt durchschnittlich 0,136 %₀, die des gährungsfähigen Restes im Mittel 0,094 %₀[3]).

Ueber diese Verhältnisse im Harn von Thieren liegen noch keine Untersuchungen vor. Ich habe deshalb auf eine Anregung des Herrn Prof. Baumann hin versucht, über die Ausscheidung von Kohlehydraten im Harn von Thieren einige Aufklärung zu gewinnen. Es wurden zu diesem Zweck dieselben Methoden benutzt, welche auch zur Ermittelung des Kohlehydratgehalts des normalen Menschenharns angewandt wurden: die schon oben genannten Reactionen mit α-Naphthol und Schwefelsäure und die Baumann'sche Methode mit Benzoylchlorid und Natronlauge. Es sind dies die einzigen bis jetzt bekannten Reactionen auf Kohlehydrate im Allgemeinen. Huppert nennt dieselben in seinem Lehrbuche deshalb auch «Allgemeine Kohlehydrat-Reactionen»[4]). Daneben wurden auch noch Versuche mit der von v. Jaksch eingeführten Phenylhydrazinprobe angestellt.

Bevor ich über meine Untersuchungen und deren Resultate berichte, halte ich es für zweckmässig, auf die benutzten Untersuchungsmethoden und ihre Anwendungsweise etwas näher einzugehen und zu zeigen, welche Schlüsse man aus denselben zu ziehen berechtigt ist. Es kann ja von vornherein durchaus nicht erwartet werden, dass Methoden, welche auf so sehr verschiedenen Zersetzungen und Verbindungen der Kohlehydrate beruhen, in ihren Resultaten unter einander übereinstimmen werden, namentlich wenn man berücksichtigt,

---

[1]) Ibidem.
[2]) Luther, Inaug.-Dissert., Berlin 1890, S. 43.
[3]) L. c.
[4]) Huppert, Analyse d. Harns, 9. Aufl., S. 36.

dass es sich stets auch um verschiedene Kohlehydrate im Harn handelt oder handeln kann. Doch unter Berücksichtigung des chemischen Processes, der bei einzelnen Reactionen vor sich geht, können die Ergebnisse derselben sich immerhin gegenseitig beweisen und ergänzen.

Untersuchungsmethoden.

I. Furfurolreaction.

Dieselbe wurde jeweils zuerst angewandt, um über den Kohlehydratgehalt des Harns sich im Allgemeinen zu orientiren. Die Probe wird nach der v. Udránszky'schen Vorschrift folgendermaassen ausgeführt[1]; «Gibt man zu einem Tropfen einer 0,06 % Traubenzuckerlösung zwei Tropfen einer 15 % alkoholischen Lösung von α-Naphthol, so trübt sich zunächst die Flüssigkeit. Giesst man nun vorsichtig unter das Gemisch etwa 1/2 cbcm. concentrirte Schwefelsäure in das Reagensglas, so stellt sich über dem grünen Ring (hervorgerufen durch den Einfluss der Mineralsäure auf das α-Naphthol) nach kurzer Zeit ein dunkelvioletter Farbenring ein. Vermischt man die Flüssigkeiten durch Umschütteln (bei Abkühlung) zu der Zeit, wo diese Farbenerscheinung eben zu bemerken ist, so resultirt eine carmoisinrothe Färbung mit einem Stich in's Blaue. Es sind dann in der Flüssigkeit zugleich die im ersten Kapitel dieser Mittheilungen beschriebenen Spectralerscheinungen wahrzunehmen. Die Reaction ist bei Anwendung einer 0,05 % Traubenzuckerlösung schon etwas undeutlich. Nimmt man einen Tropfen einer 0,03 % Traubenzuckerlösung zur Reaction, so sind keine charakteristischen Erscheinungen mehr zu bemerken.» Ueber die Spectralerscheinungen heisst es an der betreffenden Stelle[2]: «Es zeigt das Reactionsgemisch, wenn die Flüssigkeit eben eine pfirsichblüthen- bis himbeerrothe Farbe angenommen hatte, einen schmalen nicht ganz scharfen Streifen in der Mitte zwischen D und E. Von F aus

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, S. 384.

[2]) Ibidem, S. 364.

bis zum Rande war das ganze Spectrum verdunkelt. Ging die Verdunkelung der Flüssigkeit weiter, was meistens nach sehr kurzer Zeit eingetreten war, so verschwand der Streifen und gab einer diffusen, bis C reichenden Dämpfung Platz.»

Luther, welcher ausgedehnte Untersuchungen mit dieser Reaction anstellte, nahm einige Abänderungen an derselben vor. Er fand es zweckmässiger, als Lösungsmittel für das α-Naphthol, welches nach der ursprünglichen v. Udránszky-schen Angabe[1]) mit Thierkohle behandelter absoluter Alkohol war, Chloroform anzuwenden, und benutzte zu seinen Versuchen eine 10°/₀ Lösung von α-Naphthol in Chloroform. Den Alkohol verliess er deshalb, weil er fand, dass auch der reine absolute Alkohol manchmal Beimengungen enthalten kann, die mit α-Naphthol und Schwefelsäure allein schon eine Furfurolreaction geben. Ich habe diese Modification bei meinen Versuchen beibehalten.

Beim Gebrauch der Reaction sind noch einige andere Vorsichtsmassregeln zu beachten, auf welche auch Luther schon aufmerksam macht. Ich halte es für nöthig, dieselben hier gleichfalls kurz zu besprechen. Die Reaction ist so scharf, dass auch die geringste Verunreinigung einen positiven Ausfall der Probe zur Folge haben kann. Diese Schärfe ist zweifellos ein Nachtheil, nicht deshalb, weil accidentelle Verunreinigungen beim Anstellen der Reaction und an den Reagensgläsern nicht sicher zu vermeiden wären — diese werden nach sorgfältliger Reinigung und Ausspülen mit destillirtem Wasser völlig rein, auch das bei der Reaction zugesetzte destillirte Wasser ist leicht rein zu erhalten, — sondern weil es schwer hält, α-Naphthol zu bekommen, das nicht an und für sich schon die Reaction gibt und Schwefelsäure, welche nicht durch Bildung eines zu starken grünen Ringes mit dem Naphthol die Furfurolreaction stört. Bei meinen Versuchen benutzte ich ein von Merck bezogenes Präparat von α-Naphthol, das ich selbst noch einmal durch Destillation reinigte. — Von besonderer Wichtigkeit für den

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, S. 366.

Ausfall der Reaction ist die Reinheit der Schwefelsäure. Sehr geringe Beimengungen von Salpetersäure, welche mit keiner anderen Reaction mehr nachzuweisen sind, rufen mit dem α-Naphthol schon eine so starke Grünfärbung hervor, dass die Deutlichkeit und Schärfe der Furfurolreaction stark dadurch beeinträchtigt wird. Die meisten reinen Schwefelsäuren des Handels sind deshalb nicht zu gebrauchen. Luther hat zwei besondere Reactionen zur Beurtheilung der Brauchbarkeit der Schwefelsäure angegeben[1]: 1. «Man fügt zu einem Tropfen der α-Naphthollösung $^1/_2$ cbcm. Wasser, giesst vorsichtig 1 cbcm. Schwefelsäure hinzu und schüttelt alsdann ganz leise etwas, so darf an der Grenze der Flüssigkeitsschichten nicht sofort ein grüner Ring entstehen. Wenn ein solcher erst nach mehreren Minuten erkennbar wird, ist die Schwefelsäure, obwohl sie nicht absolut rein ist, doch noch als brauchbar zur Furfurolreaction anzusehen. Wenn man die Probe stark umschüttelt, darf dieselbe nur eine gelbe Färbung zeigen. 2. Man fügt zu 1 cbcm. Schwefelsäure 2 Tropfen der α-Naphthollösung und schüttelt um. Reine Schwefelsäure zeigt nur eine gelbe Färbung. Wenn sofort beim Umschütteln eine nur sehr schwache Grünfärbung entsteht, welche fast momentan einer reinen Gelbfärbung Platz macht, so ist die Schwefelsäure auch noch brauchbar.»

Nach Beschaffung der Reagentien stellt man eine Controllprobe mit denselben an. Man setzt in einem reinen[2]) Reagensglas zu einem Tropfen der α-Naphthollösung $^1/_2$ cbcm. Wasser mit der Spritzflasche und lässt dann langsam 1 cbcm. Schwefelsäure unter die Mischung fliessen, so dass Schichten entstehen. An der Grenze derselben tritt dann ein gelbbrauner Ring auf. (Ein rother Ring ist ein positiver Ausfall der Probe.) Da mit den mir zu Gebote stehenden Reagentien nach dem Umschütteln nicht immer nur eine rein gelbliche Farbe, wie

---

[1]) Luther, Dissert., S. 9.

[2]) Dasselbe darf auch keine Papierfäserchen oder kleine Baumwollfäden enthalten, die bei der Reinigung zurückgeblieben sind, auch nicht längere Zeit unbedeckt in staubiger Luft gestanden sein. v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, S. 388.

es Luther beobactete, sondern mitunter auch ein röthlicher Schimmer, besonders nach einigem Stehen in der Mischung auftrat, hielt ich mich bei der Beurtheilung der Reaction allein an den Farbenrig.

Was die Grenze des Eintritts der Probe betrifft, so nahm v. Udránszky die Reaction, welche eine 0,05 % Zuckerlösung gab, als Endreaction an[1]). Luther verfeinerte mit seinen verbesserten Reagentien dieselbe und beobachtete «bei einer 0,02 % Traubenzuckerlösung nach leisem Umschütteln sofort einen, wenn auch schwachen, so doch noch wahrnehmbaren violetten Ring, selbst eine 0,01 % Lösung zeigt diese Erscheinung, aber nur sehr schwach». Er nahm deshalb den Ausfall der Probe bei einer 0,02 % Traubenzuckerlösung als Endreaction an. Ich kann diese Angaben bestätigen, nur muss ich bemerken, dass eine Einübung an Zuckerlösungen auf die Reaction nöthig ist, und immerhin die Subjectivität des Beobachters in Betracht kommt.

Beim Anstellen der Probe lässt man mit einem Tropfglas — Luther macht in seiner mehrfach angeführten Arbeit genaue Angaben, wie man am zweckmässigsten dabei verfährt[2]) — einen Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit auf den Boden des Reagensglases fallen und setzt die Reagentien, wie bei der Controllprobe beschrieben hinzu. Der Wasserzusatz ist wichtig, da zum Zustandekommen der Reaction eine gewisse Erhitzung nöthig ist, und diese erfolgt in genügender Stärke durch die Einwirkung der Schwefelsäure auf die geringe Menge Wasser. Zur Beobachtung des Farbenringes wird am besten hinter das Reagensglas ein Blatt weisses Papier gehalten.

Sind die oben beschriebenen Bedingungen erfüllt, so ist es möglich, mit ziemlicher Genauigkeit den Kohlehydratgehalt des Harns, auf eine Traubenzuckerlösung bezogen, zu bestimmen. Um dies zu zeigen, stellte ich folgenden Versuch an: Ich nahm von demselben Menschenharn zwei Proben, verdünnte dieselben in verschiedenem Verhältniss mit Wasser

---

[1]) S. oben S. 516.

[2]) Luther, Dissert., S. 7.

und bestimmte den Kohlehydratgehalt jeder der zwei verdünnten Lösungen für sich. Erst am Schlusse wurde das Resultat mit der ursprünglichen Verdünnungsgrösse multiplicirt. Ich nahm z. B. von einem Harn 15 cbcm., füllte dieselben mit Wasser auf 80 auf und bestimmte den Kohlehydratprocentgehalt dieser Lösung. Bei einer Verdünnung auf 210 cbcm., also auf das 2,625fache Volum constatirte ich die Grenze der Reaction. Auf eine Traubenzuckerlösung bezogen, würde dies einen Zuckergehalt von $0{,}02 \times 2{,}625 = 0{,}0525\,\%$ bedeuten. Da aber die 80 cbcm., von denen ich ausging, nur 15 cbcm. Harn enthielten, also eine 5,33fache Verdünnung desselben darstellten, enthielt der Harn $0{,}0525 \times 5{,}33 = 0{,}289\,\%$ Kohlehydrate. Von demselben Harn füllte ich 10 cbcm. auf 35 auf und nahm die letztere Flüssigkeit zum Ausgangspunkt. Die Endreaction trat bei einem Wasserzusatz bis zum Gesammtvolum von 145 cbcm., also bei einer 4,14fachen Verdünnung ein. Dies würde einen Kohlehydratgehalt von $0{,}02 \times 4{,}14 = 0{,}0828\,\%$ bedeuten. Da aber nur 10 cbcm. des ursprünglichen Harns in den 35 cbcm. enthalten waren, musste derselbe einen Gehalt von $3{,}5 \times 0{,}0828 = 0{,}289\,\%$ Kohlehydrate haben.

Nur ganz kurz sollen noch zwei weitere Beispiele angeführt werden:

II. Harn. a) 5 cbcm. auf 15 verdünnt. Endreaction bei 85. Gehalt $= 5{,}66 \times 0{,}02 \times 3 = 0{,}339\,\%$.

b) 20 cbcm. desselben Harns auf 115 verdünnt. Endreaction bei 340 cbcm. Gehalt $= 2{,}956 \times 0{,}02 \times 5{,}75 = 0{,}339\,\%$.

III. Harn. a) 20 cbcm. auf 90 verdünnt. Endreaction bei 330. Gehalt $= 3{,}66 \times 0{,}02 \times 4{,}5 = 0{,}329\,\%$.

b) 5 cbcm. auf 15. Endreaction bei 85 cbcm Gehalt $= 5{,}66 \times 0{,}02 \times 3 = 0{,}339\,\%$.

Zu diesen Resultaten muss bemerkt werden, dass dieselben doch nur als annähernde Abschätzungswerthe betrachtet werden dürfen. Enthielte der Harn als einziges Kohlehydrat Traubenzucker, so könnte, wie eben gezeigt, sein Gehalt daran durch diese Reaction mit ziemlicher Genauigkeit bestimmt werden. Der Ausfall der Reaction ist aber von der Menge des Fur-

furols abhängig, welches durch die Schwefelsäure von den Kohlehydraten abgespalten wird, und diese ist bei verschiedenen Kohlehydraten verschieden[1]). Wir vergleichen aber den Harn mit einer reinen Traubenzuckerlösung, resp. betrachten ihn bei der Berechnung als eine solche und begehen so einen Fehler, welcher um so grösser ist, als nach den Untersuchungen Luther's der Traubenzucker im Harn nur den kleineren Theil der Kohlehydrate desselben ausmacht. Bei dem Harn von Thieren ist über dieses Verhältniss noch nichts bekannt.

II. Methode mit Benzoylchlorid und Natronlauge von Baumann.

Die Reaction ist eine sehr scharfe und sichere Probe auf Kohlehydrate. Diese mehrwerthigen Alkohole fallen dabei wie alle Alkohole als Ester der Benzoësäure in Form eines in Wasser völlig unlöslichen, weisslichen Niederschlages aus. Was die Schärfe der Reaction anbelangt, so schreibt Baumann[2]): «1—2 mgr. Traubenzucker in 100 cbcm. Wasser gelöst, geben beim Schütteln mit 2 cbcm. Benzoylchlorid und der entsprechenden Menge von Natronlauge einen sehr bemerkbaren flockigen Niederschlag des benzoylirten Traubenzuckers.» Und: «Gelingt es, bei dieser Probe andere Stoffe ausser dem Traubenzucker vollkommen anzuschliessen, so ist dieselbe geeignet, Spuren dieses Kohlehydrats, welche auf anderem Wege nicht entfernt sicher nachgewiesen werden können, noch erkennen zu lassen.»

Auch eine quantitative Bestimmung der Kohlehydrate wird durch diese Reaction ermöglicht, durch Wägung des auf dem Filter gesammelten und getrockneten Niederschlags. Nur muss dabei beachtet werden, dass, auch bei Anwendung

---

[1]) Luther, Dissert. S. 43, berechnet, dass, setzt man den Furfurolwerth des Traubenzuckers gleich 1:

Amylum 1,33
Glykogen 1,25
Dextrin 1,33 Furfurol liefert.

[2]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin, Bd. 19, S. 3219.

eines grossen Ueberschusses von Benzoylchlorid ein gewisser Bruchtheil der Kohlehydrate der Benzoylirung gewöhnlich entgeht. Man erhält daher, wenn die vom ersten Niederschlag getrennte Flüssigkeit zum zweiten Male mit Benzoylchlorid und Natronlauge geschüttelt wird, einen zweiten Niederschlag von Benzoësäure-Estern.

Um die Kohlehydrate aus dem Harn zu gewinnnen, empfiehlt Wedenski[1]) folgendes Verfahren: Der frische Harn wird mit wenig Natronlauge versetzt und von den ausgeschiedenen Phosphaten abfiltrirt. Zu dem Filtrat werden auf 100 cbcm. des Harns weitere 25—40 cbcm. Natronlauge von 10—12 % und zugleich 3—5 cbcm. Benzoylchlorid hinzugefügt. Diese Mischung wird alsbald so lange geschüttelt, bis der Geruch des Benzoylchlorids verschwunden ist. Die Menge der zu verwendenden Natronlauge ist immer abhängig von der Menge des Benzoylchlorids; man hat dabei zu beobachten, dass nach Beendigung der Einwirkung die Reaction der Flüssigkeit stets alkalisch sei.» Bei meinen Versuchen verfuhr ich ebenso, nur setzte ich in der Regel 10 cbcm. Benzoylchlorid und etwa 100 cbcm. Natronlauge zu. Sehr concentrirte Harne wurden vorher mit destillirtem Wasser verdünnt. Der Filterrückstand muss so lange mit Wasser ausgewaschen werden, bis er kein freies Alkali mehr enthält. Meist tritt am Ende des Auswaschens eine schwach saure Reaction ein, welche von freier Benzoësäure herrührt.

Dass in diesem Estergemenge reichlich Kohlehydrate enthalten sind, zeigte v. Udránszky auch durch den Nachweis, dass dasselbe beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure grosse Mengen Furfurol liefert[2]).

Nach Baumann[3]) entsteht bei dieser Methode ein Gemenge mehrerer Ester, so dass man aus dem bei der Analyse gefundenen Kohlen- und Wasserstoffgehalt keinen Schluss auf ein bestimmtes Kohlehydrat, welches den Ester bildet, ziehen

---

[1]) Wedenski, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 120.

[2]) v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, S. 379.

[3]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 19, 1886, S. 3218.

kann. Doch gelang es Wedenski in seiner oben angeführten Arbeit, durch Vergleichung der Analysen von benzoylirtem Glycogen, Dextrin und Traubenzucker mit den aus dem Harn gewonnenen Estergemengen festzustellen, dass die Zusammensetzung der aus dem Menschenharn gewonnenen zwischen den Werthen der Benzoësäureester eines Kohlehydrats der Traubenzuckergruppe und derjenigen eines Kohlehydrats der Stärkegruppe liegt.

III. Probe mit Phenylhydrazin und Natriumacetat.

E. Fischer[1]) fand, dass eine Reihe von Kohlehydraten (Dextrose, Lävulose, Galaktose, Rohrzucker, Milchzucker, Sorbin und Maltose) mit Phenylhydrazin Verbindungen eingehen, welche in Wasser schwer, in Alkohol leicht löslich sind und sich in charakteristischen gelben, feinen Nadeln abscheiden. Fischer nannte diese Körper Osazone. Sie bilden sich am besten beim Erhitzen einer Zuckerlösung mit Phenylhydrazin auf dem Wasserbad. Der chemische Vorgang bei der Einwirkung von Phenylhydrazin auf Traubenzucker in der Wärme, wobei Oxydation eintritt, ist der folgende:

$$C_6H_{12}O_6 + 2\,C_6H_5 - NH - NH_2 = C_6H_{10}O_4\,(C_6H_5N_2H)_2 + 2\,H_2O + H_2.$$

Fischer zeigte schon in seiner ersten Mittheilung, dass die Bildung der Osazone mit Phenylhydrazin eine scharfe Reaction auf Traubenzucker ist, und v. Jaksch[2]) empfahl diese Reaction zur Erkennung des Zuckers im Harn. Nach seiner Angabe ist die Probe folgendermassen anszuführen: «In eine Eprouvette, welche 6—8 cbcm. Harn enthält, werden zwei Messerspitzen voll salzsaures Phenylhydrazin und drei Messerspitzen voll essigsaures Natron gebracht, und wenn sich die zugesetzten Salze beim Erwärmen nicht gelöst hätten, noch etwas Wasser hinzugefügt. Das Gemisch wird in der Eprouvette in kochendes Wasser gesetzt und nach ca. 20—30

[1]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 17, 1884, S. 579.

[2]) Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 11, 1866, S. 20 und v. Jaksch, Klin. Diagnostik, II. Aufl., S. 286.

Minuten in ein mit kaltem Wasser gefülltes Becherglas gebracht. Falls der Harn nur halbwegs grössere Mengen Zucker enthält, entsteht sofort ein gelber, krystallinischer Niederschlag. Erscheint dieser Niederschlag makroskopisch amorph — was zuweilen der Fall ist — so wird man bei mikroskopischer Untersuchung sofort theils einzelne, theils in Drusen angeordnete, gelbe Nadeln finden. Handelt es sich um sehr geringe Mengen Zucker, so bringt man die Probe in ein Spitzglas und untersucht das Sediment. Waren auch nur Spuren von Zucker vorhanden, so wird man einzelne Phenyglycosazonkrystalle niemals vermissen. Das Vorkommen von kleineren und grösseren gelben Plättchen oder stark lichtbrechenden, braunen Kügelchen ist für Zucker nicht beweisend. Die Probe gibt sehr verlässliche Resultate mit pathologischen Harnen aller Art und ist sehr empfindlich. Man kann mit ihr noch mit grosser Sicherheit 0,1 % Zucker nachweisen.»

Ueber den Werth dieser Reaction sind die Meinungen sehr getheilt. Von guten Resultaten mit derselben berichten Kobrak[1]), Pollatschek[2]) und Rosenfeld[3]). Der Letztere bezeichnet die Probe als die verlässlichste und schärfste und gibt als Grenze derselben 0,03 % Zucker an, während v. Jaksch diese ursprünglich bei 0,1 % angenommen hatte. Die Angaben Rosenfeld's werden durch Geyer[3]) bestätigt. Hirschl[4]) stellte fest, dass noch 0,003procentige Zuckerlösungen die Reaction geben. Versetzte er aber Harn mit Zucker, so war erst ein Gehalt von 0,03 % nachweisbar, nach seiner Ansicht deshalb, weil die starken amorphen Niederschläge, die sich im Harn neben den Krystallen bilden, dieselben verdecken. Nur in Harnen, die mit Phenylhydrazin behandelt keine Spur von einem Niederschlag gaben, konnte er 0,003 % Zucker nachweisen.

---

[1]) Inaug.-Dissert., Breslau 1887.

[2]) Deutsche med. Wochenschr.. 1888, Nr. 14, S. 354, 451, 479.

[3]) Wiener med. Presse, 1889, S. 1688.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIV, S. 380.

Vor einigen Jahren fand Thierfelder[1]), dass Glycuronsäureanhydrid nach E. Fischer mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat behandelt, mit dem Phenylhydrazin eine Verbindung eingeht, welche sich in Form von braunen Tröpfchen allmälig zu Boden senkt und eine zähe schwarze Masse darstellt. Nahm er statt der Säure das Kalisalz derselben und zwar auf einen Theil des Salzes 2 Theile salzsaures Phenylhydrazin und 3 Theile Natriumacetat in 20 Theilen Wasser, so traten nach einstündigem Erhitzen auf dem Wasserbade feine wolkige Trübungen auf, die aus mikroskopischen, gelben Nadeln bestanden. Die Abscheidung der Krystalle ist nach mehreren Stunden noch nicht beendigt, und allmählich geht ihre schöne gelbe Farbe in eine braune über. Der gereinigte und getrocknete Niederschlag stellt eine hellgelbe, leicht zu pulverisirende Masse dar, die bei 114—115° schmilzt.

Geyer[2]) wiederholte die Versuche Thierfelder's und erhielt bei der Behandlung einer Glycuronsäurelösung mit Phenylhydrazin nach v. Jaksch einen aus gelben, mikroskopischen Nadeln bestehenden Niederschlag, welcher dem Phenylglycosazon so ähnlich war, dass er weder in der Krystallform, noch in den Löslichkeitsverhältnissen irgend einen Unterschied finden konnte. Daraus zieht er den Schluss, dass der als charakteristisch geschilderte Niederschlag für Zucker nicht beweisend ist. Auf Grund der Versuche Flückiger's, welcher wahrscheinlich gemacht hatte, dass die reducirende Substanz des normalen Harnes eine Glycuronsäureverbindung ist, suchte Geyer diesen Satz auch auf umgekehrtem Wege zu beweisen, indem er die charakteristischen gelben Nadeln aus Harn zu erhalten suchte, dessen völlige Zuckerfreiheit er vorher erwiesen hatte. Um die Abwesenheit von Zucker sicher nachzuweisen, benutzte er die Gährungsprobe und die Polarisation. Da diese beiden Methoden aber nur bis 0,1 °/₀ Zucker bestimmt anzeigen, isolirte er denselben nach dem Ludwig-Abeles'schen[3]) Verfahren. Er untersuchte die Harne von 14

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, S. 395.

[2]) L. c.

[3]) Wiener med. Presse, Bd. XXX, 1889, S. 1688.

völlig gesunden Personen. Dieselben reducirten stark und waren optisch theils linksdrehend (10 Fälle), theils optisch inactiv (4 Fälle); direct konnte bei keinem Gährung erzeugt werden. Die Phenylhydrazinprobe gab in allen Fällen positive Resultate. Der Niederschlag war zwar meist nicht sehr stark, Geyer konnte aber stets zahlreiche charakteristische Krystalle unter dem Mikroskop nachweisen. Die Löslichkeitsverhältnisse waren dieselben wie bei dem Phenylglycosazon. Die mit dem Ludwig-Abeles'schen Verfahren erhaltenen Lösungen gaben die Trommer'sche sowie die Phenylhydrazinprobe leicht. 4 derselben zeigten Gährung, 2 waren zweifelhaft, 8 verhielten sich ganz negativ. Mit dem Polarisationsapparat zeigten 4 schwache Rechtsdrehung, die übrigen Linksdrehung. Auf Grund dieser Versuche kommt Geyer zu dem Schluss, dass die Phenylhydrazinprobe auch mit zuckerfreien Harnen positive Resultate geben kann, und spricht die Vermuthung aus, dass in solchen Fällen das Phenylhydrazin wahrscheinlich mit einer Glycuronsäureverbindung jenen charakteristischen Niederschlag bildet, welcher zwar nicht aus Phenylglycosazon besteht, aber von diesem durch einfache Methoden nicht unterschieden werden kann. Aus diesem Grunde erklärt er den Schluss von Schilder[1]) für haltlos, welcher bei 14 normalen Harnen mit der Phenylhydrazinprobe positives Resultat bekam und daraus folgerte, dass der normale Harn immer geringe Mengen Zucker enthält.

Dass jeder normale Harn Kohlehydrate enthält, ist, wie schon gesagt, durch die Benzoylchlorid- und Furfurolreaction erwiesen, dass ein Theil derselben aus Traubenzucker besteht, durch die Untersuchungen Wedenski's[2]), auch durch Luther[3]) sehr wahrscheinlich gemacht worden. Auf der anderen Seite sind aber die Versuche Geyer's für das Gegentheil durchaus nicht beweisend. Wenn man vom Zuckergehalt des normalen Harnes spricht, so wird gewissermassen stillschweigend angenommen, dass Traubenzucker gemeint

[1]) Wiener med. Blätter, 1886, Nr. 13.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, XIII, S. 126,
[3]) Dissert., S. 42.

sei. Doch wäre es sehr wohl möglich, dass der Harn andere Zuckerarten enthielte, welche vielleicht nicht gährungsfähig und linksdrehend sind. Ueberhaupt ist die Drehung kein absolutes Maass, da sie durch entgegengesetzt drehende Substanzen vermindert oder aufgehoben werden kann. Auch eine negative Gährungsprobe beweist die Abwesenheit von Zucker nicht, weil, wie eben gesagt, nicht jeder Zucker die Eigenschaft hat, mit Hefe in Alkohol und Kohlensäure zu zerfallen. Aber nicht einmal für die Abwesenheit geringer Mengen von Traubenzucker ist eine negative Gährungsprobe beweisend, da 1 Volum CO_2 sich in einem Volum Wasser (Harn) löst. Gewöhnlich werden mindestens 6—8 cbcm. Harn zu einer Gährungsprobe angestellt, von welchen 6—8 cbcm. CO_2 absorbirt werden können. Es ist also möglich, dass geringe Mengen von Traubenzucker im Harn vorhanden sind und vergähren, ohne dass eine Gasensentwickelung sichtbar wird. Aus diesen Gründen könnte vielleicht die Schlussfolgerung Schilder's doch zu Recht bestehen.

Hirschl[1]) stellte ebenfalls Versuche mit glycuronsaurem Natron und Phenylhydrazin nach v. Jaksch an. Wurde die Probe $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbade erhitzt, so stellte sich makroskopisch erst nach mehrstündigem Stehen ein wolkiger Niederschlag von hellcitronengelber Farbe ein. Mikroskopisch fand er zahlreiche grosse und kleine Schollen, zahlreiche hellgelbe Nadeln, die in radärer Anordnung sich befanden. Sie unterschieden sich von Phenylglycosazon dadurch, dass sie dicker, plumper waren, als jene. Die abfiltrirten und getrockneten Nadeln zeigten den Schmelzpunkt 110—114°.

Blieb die Probe $^1/_2$ Stunde auf dem kockenden Wasserbad, so bekam er nach mehrstündigem Stehen einen braungelben, amorphen Niederschlag, der mikroskopische gelbe und gelbbraune, ganz unregelmässig gestaltete Schollen zeigte. Daneben enthielt er amorphe Körnchen und spärliche kleine stechapfelförmige Gebilde. Nadeln oder andere Krystalle fanden sich im mikroskopischen Bilde nicht vor. Der Schmelzpunkt

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIV, S. 382.

dieses Niederschlags, der ebenfalls wie der erstere in Alkohol löslich, in Wasser unlöslich war, lag bei 107—108° C. Liess er die Probe 1 Stunde auf dem Wasserbad, so blieb der mikroskopische Befund der gleiche. Nur der Schmelzpunkt des Niederschlags rückte auf 150°. Auf Grund dieser Versuche hält Hirschl eine Verwechselung des Phenylglycosazons mit dem Glycuronsäurephenylhydrazin bei längerem Verweilen der Probe auf dem Wasserbade für unmöglich, abgesehen von dem verschiedenen Schmelzpunkt auch deshalb, «weil die Nadeln der Glycuronsäureverbindung nie so regelmässig gestaltet, nie in so schöner, regelmässiger, radiärer Anordnung sich befinden, wie die Nadeln des Phenylglycosazons.»

Er untersuchte 50 Harne nach v. Jaksch, nur mit der Abänderung, dass die Proben eine ganze Stunde auf dem Wasserbad verblieben. In 45 Fällen erhielt er einen amorphen Niederschlag und fand in 40 Fällen kleinere und grössere Schollen von gelber und gelbbrauner Farbe oder amorphe kleine Körnchen. 3mal traten stark lichtbrechende Kügelchen hinzu, 2mal waren neben den Schollen und Körnchen spärliche, kleine, unregelmässig gebildete, stechapfelförmige Körperchen zu sehen. 1 Fall bot keinen Niederschlag. 4 Fälle (3 Diabetes, 1 Haemorrhagia cerebri cum glycosuria) lieferten einen gelben, makroskopisch krystallinischen Niederschlag, der mikroskopisch grosse, gelbe Nadeln von regelmässiger Begrenzung in schönster Anordnung zeigte. Daneben befanden sich kleinere Nadeln in Stechapfelform geordnet, doch waren auch diese kleinen Nadeln ziemlich lang und regelmässig gestaltet, so dass Hirschl sie für sehr leicht von denen der Glycuronsäureverbindung unterscheidbar hält. Der Niederschlag war in Alkohol löslich, in Wasser unlöslich, der Schmelzpunkt lag bei 205°. Die Gährungsprobe gab nur in diesen 4 Fällen positives Resultat. Daraus schliesst Hirschl, «dass die Phenylhydrazinprobe nur mit jenen Harnen ein positives Resultat zu geben vermag, die wirklich Zucker enthalten.»

Auch ich stellte die Phenylhydrazinprobe mit 16 Harnen von gesunden jungen Männern (Praktikanten des Laboratoriums) genau nach der Angabe Hirschl's an: 10 cbcm. Harn

wurden in ein Reagensglas gebracht und jeweils $^1/_2$ gr. salzsaures Phenylhydrazin und 1 gr. Natriumacetat zugesetzt. $^1/_2$ gr. Phenylhydrazin deshalb, weil ich annahm, dass dies den zwei Messerspitzen, welche Hirschl zugibt, wohl entsprechen würde und alle Harne genau gleich behandeln wollte. Darauf wurde die Probe eine volle Stunde in das kochende Wasserbad gebracht, bis zum nächsten Tag stehen gelassen und dann mikroskopisch untersucht. In allen Fällen schied sich ein Niederschlag ab, welcher meistens in einer Höhe von 1—2 mm. den Boden des Glases bedeckte, öfters auch reichlicher war und nur in etwa 1—2 Fällen eine geringere Stärke zeigte. Die darüber stehende Flüssigkeit war immer bis zur völligen Undurchsichtigkeit trübe und schwankte in ihrer Farbe zwischen schwefelgelb und hellbraun.

Der Niederschlag wurde jeweils in der Weise untersucht, dass die Flüssigkeit abgegossen und dann ein Tropfen des Rückstandes mit dem Glasstabe auf den Objectträger gebracht wurde. Bei allen Präparaten wurde die gleiche Vergrösserung, 360 linear, angewandt.

In allen Proben fanden sich neben amorphen Gebilden schwefelgelbe Krystalle oder Nadeln und zwar durchschnittlich in solcher Anzahl, dass dieselben in fast keinem Gesichtsfelde fehlten. Oefters traten die amorphen Körperchen an Menge stark zurück und das Gesichtsfeld enthielt fast nur die charakteristischen krystallinischen Gebilde. Die Form und Anordnung derselben war fast in jeder Probe eine andere, doch zeigte im Allgemeinen wieder jeder Harn einen gewissen vorherrschenden Krystallisationstypus, so dass die einzelnen Gesichtsfelder sich sehr ähnlich sahen. In dem einen Falle z. B. waren die Nadeln sehr fein und schlank, meist in Garben- oder Sternform angeordnet, daneben lagen zahlreiche einzelne Nadeln; in einem anderen wieder fand ich dieselben etwas dicker, fast nur zu Stern- oder Büschelform vereinigt, und einzelne Nadeln sehr selten. Immer aber zeigten die krystallinischen Gebilde übereinstimmend eine helle, schwefelgelbe Farbe. Was die Grösse der Nadeln anbelangt, so war dieselbe in den verschiedenen Proben, aber auch in jedem einzelnen Falle

sehr verschieden: bisweilen bestanden die Sterne aus Strahlen, die nahezu gleich lang waren, im anderen überragten einzelne die übrigen um ein Bedeutendes. Die regelmässige Gestaltung der Nadeln und die radiäre Anordnung, auf welche Hirschl zur Unterscheidung von den Krystallen des Glycuronsäure-Phenylhydrazins so grosses Gewicht legt[1]), vermisste ich sehr selten. Die amorphen und runden Körperchen fanden sich mehr oder weniger reichlich in jedem Präparate und zeigten eine gelbe, braune oder schwarzbraune Farbe.

Von den meisten Proben fertigte ich Zeichnungen an, aber nicht in der Weise, dass die schönsten Krystalle herausgegriffen wurden, sondern ich suchte jeweils ein mir für die betreffende Probe charakteristisch erscheinendes Gesichtsfeld in seiner Gesammtheit abzubilden. Von den vielen seien nur drei mitgetheilt, welche als Beispiele für alle übrigen gelten können:



Einige Male wurde versucht, durch vorheriges Ausfällen des Harns mit dem gleichen Volum neutralen Bleiacetats, Zersetzung des Filtrats durch Schwefelwasserstoff und Austreiben des überschüssigen Schwefelwasserstoffs durch Einleiten eines Kohlensäurestroms die Krystallisation zu verbessern. Es scheint dabei zwar ein geringerer Grad von Verharzung

[1]) S. oben S. 528.

einzutreten, die so behandelten Proben zeigen immer eine viel hellere Färbung; doch bilden sich nicht mehr Krystalle, und dieselben werden fadenartig und eher undeutlicher.

Warum Hirschl in 45 normalen Harnen nur 2mal «kleine stechapfelförmige Körperchen» sah, kann ich mir vermuthungsweise nur so erklären, dass er vielleicht mit einer äusserst schwachen Vergrösserung untersucht hat.

Versuche mit Thierharn.

Dieselben beschränkten sich auf den des Hundes, des Kaninchens und Pferdes. In einer grösseren Anzahl derselben wurden, soweit ihre Menge ausreichte, jeweils alle drei Methoden neben einander ausgeführt.

I. Hund.

Der Hundeharn rührt von drei verschiedenen Thieren her, deren Futter in gleicher Weise in Hundekuchen bestand. Selbstverständlich wurde eine Verunreinigung des Harns mit dem Futter sorgfältig vermieden.

Alle Harne gaben Furfurolreaction, und zwar fiel beim Anstellen der Probe mit einem Tropfen des unverdünnten Harns die Stärke der Reaction auf: Nach leisem Schütteln bildete sich sofort ein sehr breiter und intensiv gefärbter roth-violetter Ring. Nach starkem Umschütteln nahm das Gemisch eine sehr dunkelviolette Färbung an, welche in manchen Fällen nach kurzem Stehen eine solche Dichtigkeit erreichte, dass die Probe fast ganz undurchsichtig wurde.

Bei der quantitativen Bestimmung lieferten die Harne so viel Furfurol wie eine Traubenzuckerlösung von:

No.	1. Hund.		No.	2. Hund.		No.	3. Hund.	
	Furfurolwerth.	Spec. Gew.		Furfurolwerth.	Spec. Gew.		Furfurolwerth.	Spec. Gew.
1.	0,88 %	—	9.	0,94 %	1026	14.	0,92 %	1048
2.	0,92 %	—	10.	0,72 %	1024	15.	1,12 %	1050
3.	0,90 %	—	11.	0,60 %	1023	16.	0,32 %	1049
4.	0,84 %	—	12.	0,52 %	1027			
5.	1,06 %	1033	13.	0,48 %	1015			
6.	1,28 %	1045						
7.	1,46 %	1050						
8.	0,96 %	1033						

Wir erhalten also im Verhältniss zum Menschenharn sehr hohe Zahlen und sehen zugleich, dass die specifisch schweren Harne im Allgemeinen einen höheren Furfurolwerth aufweisen.

Da wir bei dem fleischfressenden Thiere eher eine geringe Kohlehydratausscheidung erwarteten, glaubten wir anfangs, als allein mit der Furfurolreaction untersucht wurde, diese hohen Werthe mit der Annahme erklären zu können, ein Kohlehydrat vor uns zu haben, welches viel Furfurol abspaltet und vielleicht der Arabinose nahe stehen könnte. Die Parallelversuche mit der Benzoylchloridmethode zeigten auch, dass die Menge der aus dem Hundeharn erhaltenen Benzoësäureester zwar grösser ist als die aus Kaninchen- und Pferdeharn gewonnenen, welche viel geringere Furfurolwerthe zeigen, aber die aus dem Menschenharn erhaltenen Mengen kaum erreicht, obwohl bei dem letzteren die Furfurolreaction bedeutend geringere Werthe ergibt als im Hundeharn. So lieferten je 100 cbcm der Harne:

5. 0,511	9. 0,585	14. 0,6375
6. 1,2155	11. 0.4605	15. 0,7375
7. 0,856		16. 0,9405 gr. Benzoësäureester.

Wedenski[1]) fand beim Menschen auf je 100 cbcm. Harn berechnet Werthe zwischen 0,138 ung 1,309 gr.

Bei der ersten Benzoylirung eines Hundeharns fielen neben dem amorphen Niederschlag der Ester zahlreiche weisslich-gelbe, helle Krystalle aus. Dieselben wurden durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser, in welchem sie sich völlig lösten, gereinigt und zeigten einen constanten Schmelzpunkt von 128°. Wir hatten es also mit Benzamid zu thun, welches durch Verbindung eines Theils der eingebrachten Benzoësäure mit dem im Hundeharn in reichlicher Menge enthaltenen Ammoniak entstanden war. Um dies zu vermeiden, wurde der Harn jeweils vor der Benzoylirung nach Ausfällung der Phosphate mit dem gleichen bis doppelten

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIII, 1889, S. 124.

Volum destillirten Wassers verdünnt und von da ab diese Erscheinung auch nicht mehr beobachtet.

Die aus dem Harn gewonnenen Benzoësäureester zeigten schon in der geringsten Menge eine sehr intensive Furfurolreaction. Auch die von den Estern abfiltrirte Flüssigkeit gab diese noch mehr oder weniger deutlich gemäss der oben[1]) gemachten Bemerkung, dass ein Bruchtheil der Kohlehydrate der Benzoylirung gewöhnlich entgeht.

In zwei Fällen (No. 5 und 6) wurde der Harn nach Klärung mit Bleiacetat mit dem Polarisationsapparat untersucht und bei No. 5 eine kaum wahrnehmbare Drehung nach links, bei No. 6 eine solche von $^1/_4{}^0$ nach derselben Richtung beobachtet. — Eine Controllprobe mit der Furfurolreaction vor und nach der Bleifällung zeigte, dass die furfurolliefernden Substanzen durch diese Behandlung sich nicht verminderten.

Auch die Phenylhydrazinprobe wurde bei einer grösseren Anzahl der Harne ausgeführt. Es fiel immer ein reichlicher, dunkelbrauner amorpher Niederschlag aus, die darüber stehende Flüssigkeit war stark braun gefärbt und völlig undurchsichtig. In keinem Falle fehlten im Niederschlag die hellgelben Krystalle vollständig. Durchschnitlich waren dieselben etwas dicker als im Menschenharn und fanden sich selten einzeln, meist zu stern-, garben- oder büschelförmigen Körperchen vereinigt. Im Grossen und Ganzen aber zeigten die Krystalle keine so schöne Ausbildung wie beim Menschenharn und traten nicht selten gegenüber den sehr reichlichen amorphen und runden Gebilden in den Hintergrund. Die Versuche, durch vorheriges Ausfällen des Harnes mit Bleiacetat besser ausgebildete Krystalle zu erhalten, hatten nur in zwei Fällen einen deutlichen Erfolg: dieselben wurden länger und schlanker und die amorphen Verunreinigungen vermindert. In allen übrigen Fällen aber trat keine deutliche Verbesserung ein.

Mehrere Male wurden grössere Mengen der Verbindung dargestellt und die Substanz theils durch Umkrystallisiren aus Wasser, theils durch Lösen in wenig warmem Alkohol und

---

[1]) S. 522.

Ausfällen mit Wasser soweit zu reinigen gesucht, um eine Schmelzpunktbestimmung ausführen zu können. Die Versuche misslangen: bei etwa 160° färbte sich die Substanz stark dunkel und sinterte zusammen, ohne dass ein Schmelzen beobachtet werden konnte.

Dass die Substanz des Harnes, welche die Phenylhydrazinprobe liefert, dieselbe ist, welche bei der Benzoylirung ausgefällt wird, zeigte ein Versuch, bei welchem das Filtrat von dem Niederschlage der Benzoylverbindungen der Phenylhydrazinprobe unterworfen wurde. In diesem Falle trat keine Spur einer Reaction ein.

II. Kaninchen.

Die Harne zweier Kaninchen, welche mit Kohl gefüttert wurden, ergaben unverdünnt immer ausgesprochene Furfurolreaction und bei der quantitativen Bestimmung auf eine Zuckerlösung bezogen, folgende Werthe:

I.		II.	
1.	0,3 %.	6.	0,32 %.
2.	0,28 %.	7.	0,40 %.
3.	0,16 %.	8.	0,26 %.
4.	0,18 %.	9.	0,50 %.
5.	0,32 %.	10.	0,34 %.

Das specifische Gewicht der Harne hielt sich constant zwischen 1008 und 1010.

Bei der Benzoylirung — die Methode wurde genau mit denselben Quantitäten des Harns und der Reagentien wie beim Hunde ausgeführt — wurden den mit der Furfurolreaction erhaltenen Zahlen entsprechend geringe Mengen erhalten. So lieferten die Harne

1. 0,110
2. 0,1465
6. 0,1845
7. 0,148
8. 0,0805
9. 0,1375 gr. Benzoësäurester.

Harn Nr. 3 wurde ebenfalls benzoylirt. Es fiel aber nur ein so geringer Niederschlag dabei aus, dass von der Wägung

desselben abgesehen wurde. Auch diese Ester gaben alle die Furfurolreaction sehr stark.

Harn Nr. 6 wurde nach Klärung mit Bleiacetat polarimetrisch untersucht und zeigte eine ganz geringe Linksdrehung.

Die Phenylhydrazinprobe, welche bei jedem der vorliegenden Harne ausgeführt wurde, lieferte meist einen nur sehr spärlichen dunkelbraunen, amorphen Niederschlag, der den Boden des Reagensglases nur zum Theil bedeckte. Die Flüssigkeit war trübe und zeigte ziemlich regelmässig eine hellbraune Färbung. Beim Anstellen der Probe mit unverdünntem Harn bestand der Niederschlag jeweils nur aus amorphen braunen und gelblichen Körperchen, welche oft aus kleineren Körnchen zusammengesetzt waren. Wurde der Harn vorher mit dem gleichen Volum Wasser verdünnt, so fanden sich neben den amorphen Gebilden öfters gelbe Sternchen, welche aber meist sehr klein waren und auch sonst unregelmässige Bildung zeigten. Eine vorherhende Behandlung mit Bleiacetat[1]) auf die oben[2]) beschriebene Weise ergab eine sehr auffallende Veränderung des Resultats: Beim Herausnehmen dieser Proben aus dem Wasserbad waren dieselben entweder völlig klar hellgelb oder opalescirend, und beim Erkalten fiel in allen Fällen ein reichlicher flockiger Niederschlag aus, der sich schon makroskopisch als krystallinisch erwies und nach dem Absitzenlassen durchschnittlich eine Höhe von 1 cm. vom Boden des Reagensglases erreichte. Die Farbe desselben war ein hellereres oder dunkleres Orangegelb, die darüber stehende Flüssigkeit grünlichgelb und ausnahmslos durchsichtig klar.

Die mikroskopische Untersuchung des Niederschlages ergab in allen Fällen, dass derselbe aus langen, schlanken, hellgelben Nadeln bestand, welche grosse Sterne oder Garben

[1]) Wurde von dem einfachen Harn 10 cbcm mit 0,5 gr. Phenylhydrazin und 1 gr. Natriumacetat angestetlt, so wurden von diesem, der durch die Fällung mit Bleiacetat auf das doppelte Volum verdünnt war, jeweils 20 cbcm. zu der gleichen Menge des Reagens angenommen.

[2]) S. 530.

bildeten, häufig aber auch einzeln lagen. Die amorphen Gebilde traten stark zurück und waren meist runde, braune, glänzende Körperchen. Siehe Fig. 1 und 2.

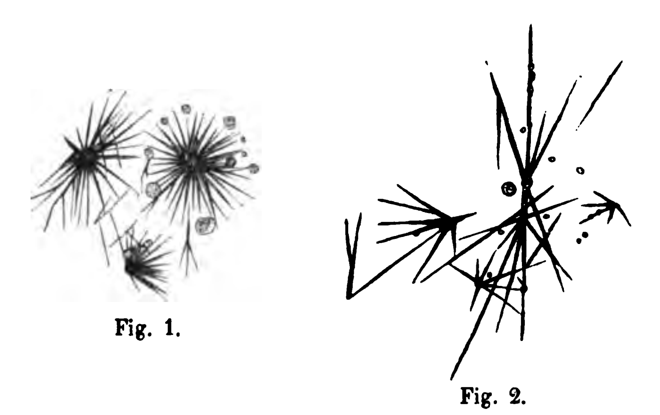


Fig. 1.

Fig. 2.

Die krystallinische Verbindung wurde in grösseren Mengen dargestellt, aus Wasser umkrystallisirt, ausgepresst und über Schwefelsäure getrocknet. Eine Schmelzpunktbestimmung mit dem braungelben, blätterigen Körper ergab von 175° an starke Braunfärbung, und bei 192°—194° schmolz derselbe unter Gasentwickelung. Dieser Schmelzpunkt liegt weit über dem des Glycuronsäurephenylhydrazins und kommt dem des Phenylglycosazons (205°) schon sehr nahe. Es dürfte deshalb kaum ein Zweifel bestehen, dass wir hier eine Kohlehydratverbindung des Phenylhydrazins (Osazon) vor uns haben. Vielleicht lässt auch die so auffallende Verschiedenheit im Ausfall der Reaction gegenüber den Ergebnissen bei Mensch und Hund die Vermuthung zu, dass der Kaninchenharn ein anderes Kohlehydrat (oder auch relativ mehr Traubenzucker) enthält.

III. Pferd.

Es wurden 3 Portionen Harn untersucht, die von verschiedenen Thieren stammten und mit jeder alle 3 Methoden neben einander ausgeführt.

Beim Anstellen der Furfurolreaction mit dem unverdünnten Harn trat jeweils ein schmutzig gelbbrauner Streifen

über einer stark grünen Zone (von der im Pferdeharn reichlicher enthaltenen Salpetersäure herrührend) auf und nach dem Umschütteln nahm die Mischung eine schmutzig grauviolette Färbung an. Bei successiver Verdünnung traten aber die störenden Färbungen mehr und mehr zurück und die eigentliche Furfurolreaction wurde deutlicher. Diese ergab bei den 3 Harnen, auf Traubenzucker bezogen, die Werthe:

1.	0,08 %	1005	Spec. Gew.
2.	0,64 %	1026	»
3.	0,42 %	1020	»

Bei der Benzoylirung entstand beim ersten Harn ein so geringer staubartiger Niederschlag, dass von einer Wägung desselben Abstand genommen wurde. Der 2. Harn ergab 0,522 gr., der 3. 0,2125 gr. Benzoësäureester.

Wir sehen also, dass hier, wie auch bei den anderen Thieren die mit der Benzoylchloridmethode erhaltenen Mengen durchaus nicht mit den Resultaten der Furfurolreaction immer in einem bestimmten Verhältniss stehen, was, wie oben auseinandergesetzt ist, auch durchaus nicht erwartet werden kann, aber dass doch in denjenigen Fällen, bei denen die Furfurolreaction hohe Werthe zeigt, im Allgemeinen auch eine grössere Menge Benzoësäureester gewonnen werden.

Bei der Untersuchung der Ester zeigte sich, dass die aus dem Pferdeharn gewonnenen kaum wahrnehmbaren, die aus dem Hundeharn etwas deutlichere Spuren von Stickstoff enthielten. Die Ester aus dem Kaninchenharn erwiesen sich als völlig stickstofffrei.

Beim Veraschen zeigten die Ester einen allerdings sehr geringen Rückstand von anorganischen Beimengungen.

Die Phenylhydrazinreaction gab beim ersten Harn mit und ohne Bleibehandlung einen äusserst geringen Niederschlag, der im ersteren Falle spärliche, gelbbraungefärbte, stechapfelförmige Gebilde enthielt, im zweiten völlig amorph war. Bei den beiden anderen Harnen wurde, wenn dieselben einfach zur Probe benutzt wurden, über einer gelbbraunen, völlig trüben Flüssigkeit ein ganz geringer, dunkelbrauner, amorpher Niederschlag erhalten, der sich mikroskopisch aus gelben bis

braunen Schollen und glänzenden, kleinen Kügelchen zusammengesetzt zeigte. Nach der Bleibehandlung fiel auch ein ziemlich geringer, flockiger, aber schon makroskopisch als krystallinisch erkennbarer Niederschlag aus der klaren röthlich gelben Flüssigkeit aus. Derselbe erwies sich bei der mikroskopischen Untersuchung aus gelbbraunen, äusserst feinen, oft fadenförmigen, mittellangen bis kurzen Nadeln zusammengesetzt, welche Sterne und Büschel bideten und sich häufig verzweigten. Dazwischen lagen braune glänzende Kügelchen und Schollen.

Also auch hier wurde durch die Bleibehandlung eine bedeutende Verbesserung der Krystallisation erreicht.

Harn Nr. 2 zeigte nach vorhergegangener Klärung bei der polarimetrischen Untersuchung eine Linksdrehung von 22 Minuten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen können kurz in folgenden Sätzen zusammengefasst werden:

1. Der physiologische Hunde-, Kaninchen- und Pferdeharn enthält eine gewisse Menge von Kohlehydraten, und zwar am meisten der Hund, weniger das Pferd, noch weniger das Kaninchen.

2. Die mit der Furfurolreaction erhaltenen Werthe werden im Allgemeinen durch die Benzoylchloridmethode bestätigt.

3. Die Phenylhydrazinprobe ergibt beim Menschen immer ein positives Resultat, ebenso beim Hund. Beim Kaninchen und Pferd sicher nur nach vorheriger Bleifällung. Aus dem Kaninchenharn werden mit dieser Methode besonders gut ausgebildete Krystalle gewonnen.

4. Die Harne aller 3 Thiere zeigen eine geringe Linksdrehung.

Untersuchungen über die Natur der von dem Gliscrobacterium gebildeten schleimigen Substanz.

Von

Dr. Pasquale Malerba.

(Der Redaction zugegangen am 5. Juli 1891.)

In der unter Mitwirkung des Herrn Dr. Sanna-Salaris[1]) ausgeführten Arbeit über die schleimige Substanz, die von dem von uns in einem menschlichen Harne entdeckten Bacterium gliscrogenum gebildet wird, sagten wir, dass man dieselbe noch nicht in ihrem Charakter definiren konnte, und nahmen uns deshalb vor, eine genaue chemische Untersuchung dieser Substanz auszuführen.

Von da ab habe ich mich wiederholt mit dem Studium dieser Substanz beschäftigt und gestehe, dass ich sehr ernste Schwierigkeiten gefunden habe, sie in hinreichender Quantität und in einem befriedigend reinen Zustande zu erhalten. Dieser Spaltpilz wächst und vermehrt sich bedeutend in peptonisirter Fleischbrühe und producirt in dieser Flüssigkeit eine grosse Quantität schleimiger Substanz; daher habe ich zuerst versucht, dieselbe auf diesem Wege zu erhalten. Jedoch die Schwierigkeit, die Substanzen frei von Pepton und von anderen Substanzen, die reichlich darin vorhanden sind, darstellen zu können, hat mich bewogen, diesen Weg zu verlassen.

So habe ich mich dem normalen Harne zugewendet, einerseits weil er das natürliche Nahrungsmittel des Bacterium

[1]) Rendiconto dell' Acc. delle scienze fisiche e matematiche, F. 1°, 1888; F. 6°, 1888; F. 32°, 1888.

ist, andererseits weil es leichter war, die Substanz zu reinigen. Zu diesem Zwecke wurde normaler Harn (immer von demselben Individuum) in einer Erlenmeyer'schen Flasche aseptisch gesammelt, sterilisirt und mit Culturen des Bacterium gliscrogenum inoculirt.

Die Flasche wurde im Luftbad bei einer Temperatur von 37° (optimum) 24—36 Stunden lang erhalten; nach dieser Zeit erhält der Harn den höchsten Schleimgehalt. Die schleimigen Harne wurden dann mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol gefällt, der Niederschlag in Wasser aufgelöst, abermals mit Alkohol gefällt und mit einer Mischung von Alkohol und Wasser gewaschen, welche mit Essigsäure angesäuert war (60 Vol. Alkohol, 50 Vol. Wasser und 2 Vol. Essigsäure); nachdem der Niederschlag im Wasser wieder gelöst war, wurde die Lösung mit Alkohol behandelt und der Niederschlag mit einer hydroalkoholischen, mit wenig Weinsäure verdünnten Mischung gewaschen (60 Alkohol, 50 Wasser, 2 Weinsäure). So gelang es, die Substanz von allen in dem Harne existirenden Beimischungen, d. h. Farbstoffen, Uraten, Salzen, frei zu machen, wie durch Untersuchung auf Spuren dieser Stoffe in dem Niederschlage constatirt wurde. Nur war es nicht möglich, die Substanz von Erdphosphaten frei zu machen, trotz Auswaschen mit der Essigsäure enthaltenden Flüssigkeit.

Die auf diese Art erhaltene Substanz erwies sich als vollständig weiss, sehr schleimig, elastisch, wieder löslich in Wasser gleich nach der Fällung, unlöslich nach etwas längerem Verweilen unter concentrirtem Alkohol. Ueber Schwefelsäure oder im Luftbad bei 105° getrocknet, schrumpft sie zusammen, nimmt eine gelbliche Farbe an, wird hart und so zerbrechlich, dass man sie pulverisiren kann. Sowohl die frische Substanz, welche lange unter dem Einflusse des Alkohols geblieben ist, als ihr Pulver sind wenig löslich in Essigsäure, auch wenn sie concentrirt ist, ebenso in anderen organischen Säuren, in den Mineralsäuren dagegen vollständig löslich.

Die Substanz, als sehr gut getrocknetes Pulver, auf einem Platinbleche verbrannt, riecht, wenn auch nicht sehr

intensiv, nach verbranntem Harn; die Dämpfe bläuen rothes Lakmus-Papier, in Folge von Ammoniakentwickelung.

Wird sie nach der Methode von Lassaigne mit einem Stück Kalium behandelt, so bildet sich Cyankalium, welches mit Ferriferrosumlösung und Salzsäure blauen Niederschlag gibt.

Mit Aetzkalilauge und Kupfersulfat gekocht färbt sie sich violett-blau.

Mit Millon's Lösung erwärmt färbt sie sich roth.

Concentrirte Salzsäure löst sie und die Flüssigkeit nimmt eine roth-violette Färbung an. Mit Essigsäure gekocht färbt sie sich nach Hinzufügen von concentrirter Schwefelsäure violett-röthlich.

Mit einer Spur von Zucker und Schwefelsäure gekocht gibt sie eine roth-braune Färbung.

Sie wird von Salpetersäure (bei dem Erwärmen) gelöst, die Flüssigkeit wird dann gelb und nach Zufügung von Ammoniak orangeroth.

Alle diese Reactionen beweisen, dass die betreffende Substanz ein stickstoffiger Körper von der Art der Albumine oder ihrer Derivate sein muss. Doch meinte[1]) Prof. Albertoni, welcher ebenfalls diese Substanz studirt hat, ohne sie zu isoliren, indem er sich auf die Reaction von Baumann und auf die von Schiff stützte, dass sie ein Kohlehydrat sei. Ich muss zugeben, dass ich selbst zunächst zu dieser Ansicht gekommen war, und nur aus dem Grunde, weil man die Anwesenheit einer albuminischen Substanz nicht leugnen kann, glaubte ich, dass man auch in der nicht ganz reinen Substanz Kohlehydrate finden könnte.

Um mich darüber zu versichern, machte ich folgende Versuche: Ich liess die Substanz mit verdünnter Schwefelsäure (1—30 Stunden) kochen, um Zucker oder wenigstens eine reducirte Substanz erhalten zu können; aber nachdem

---

[1]) Communicazione letta all' Accad. delle scienze in Bologna, Gennajo 1889.

die Schwefelsäure eliminirt war, habe ich in der concentrirten Flüssigkeit weder eine Reduction mit Kupfersalz, noch mit Wismutoxyd in alkalischer Lösung erhalten. Nach 30stündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure habe ich von dieser Substanz keine Lävulinsäure erhalten, welche nach Wehmer und Tollens[1]) auf diesem Wege aus allen Kohlehydraten entstehen soll.

Wie kann man nun den Eintritt der Reaction von Schiff hier erklären, nämlich die purpurrothe Färbung des mit einer alkoholischen Lösung von Xylidin und Eisessig zu gleichen Theilen getränkten Papierstreifens, also die Bildung von Furfurol, wie sie zuerst Udránszky beschrieben hat? Von Albertoni und dann von mir ist diese Reaction mit dem Gliscrin constatirt. Es ist kein Zweifel, dass die Substanz bei Behandlung mit Schwefelsäure Furfurol entwickelt, aber diese Furfurolbildung ist, nach Udránszky[2]), nicht ausschliesslich charakteristisch für die Kohlehydrate. Er erhielt vielmehr Furfurolbildung, als er auf dieselbe Weise Glycuronsäure, Fibrin und Globulin behandelte. Er schloss daraus, dass die Entstehung des Furfurols aus den Albuminstoffen die Existenz von chemischen Beziehungen der letzteren zu den Kohlehydraten beweist. Diese Beziehungen hatte früher schon Schützenberger nachgewiesen, indem er unter den Spaltungsproducten der Albumine eine Art Dextrin fand. Ich habe die Furfurolreaction mit Eieralbumin, sowohl mit krystallisirten, ebenso auch mit anderen Albuminstoffen erhalten. In der That empfiehlt Udránszky, die Reaction auf Furfurol nur mit eiweissfreiem Harne auszuführen. Die Reaction von Baumann beweist nichts zu Gunsten des Kohlehydrats, weil nicht blos die Kohlehydrate durch Behandlung des Harns mit Natronlauge von 10% und Benzoyl-

---

[1]) Wehmer und Tollens, Ueber die Bildung von Lävulinsäure als eine Reaction aller wahren Kohlehydrate. Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 243, S. 314—334.

[2]) Ueber die Bildung von Furfurol aus Eiweiss. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 12, S. 33.

chlorid niedergeschlagen werden, sondern auch das Cystin[1]) und ebenso die Albumine, wie ich selbst constatiren konnte.

So kann der weisse Niederschlag allein ohne andere Proben das Vorhandensein von Kohlehydrat im Glyscrin nicht hinreichend beweisen. In der That sagt Wedenski, für die Erkennung der Kohlehydrate in dem normalen Harne, dass der zweifelhaft krystallinische Niederschlag, den man nach Baumann's Methode erhält, bei 40° erweicht, bei 60° schmilzt und ungefähr 66,82 % C und 5,51 % H enthält, also einen durchschnittlichen Werth zwischen dem Werthe eines Benzoyläthers eines Kohlehydrats der Amylum-Gruppe und zwischen dem Werthe eines anderen Benzoyläthers der Traubenzucker-Gruppe vorstellt[2]).

Ueberdies constatirten Udránszky und Baumann, dass mit Natronlauge und Benzoylchlorid auch gewisse Diamine niedergeschlagen werden[3]).

Die Probe von Pettenkofer auf die Gallensäuren, parallel mit gleichen Theilen trockenen Gliscrins mit Rohrzucker wiederholt, gab eine prächtige kirschrothe Farbe mit letzteren und eine schmutzige rothe Farbe mit dem Gliscrin.

Das Gliscrin hat auch keine Aehnlichkeit mit dem Gummi von Landwehr[4]). Landwehr sagt in der That, dass man, um dies Gummi aus dem Harne abzuscheiden, eine hinreichende Quantität Kupferphosphat und Natronlauge im Ueberschusse hinzufügnn muss; alsdann schlägt die Verbindung des Kupferoxyds mit dem Kohlehydrate sich in blauen Flocken nieder.

Diese Flocken werden auf dem Filter gesammelt, sorgfältig gewaschen und in möglichst geringer Quantität concentrirter HCl gelöst; die salzsaure Lösung wird mit Alkohol

[1]) Goldmann u. Baumann, Zur Kenntniss der schwefelhaltigen Verbindungen des Harns. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 12, S. 254—261.

[2]) Wedenski, Zur Kenntniss der Kohlehydrate im normalen Harn. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 13, S. 122.

[3]) Udránszky und Baumann, Das Benzoylclorür als Reagens. Berichte d. d. chem. Gesellsch., Bd. 21, S. 2744—2751.

[4]) Centralblatt f. d. med. Wiss., 1885, No. 31, S. 369—372.

behandelt (3—4 Vol.), der trockene Niederschlag stellt ein weisses, stickstoffloses Pulver dar.

Das thierische Gummi zersetzt sich nach Landwehr sehr leicht und es bildet sich dabei ein reducirender Körper. Nun, wenn man den schleimigen Harn mit Kupfersulfat behandelt, schlägt sich die Substanz als kleine Flocken nieder, auch ehe man Natronlauge zufügt. Wenn man zuerst die Natronlauge zufügt, erhält man einen starken Niederschlag, weil das Gliscrin sich zusammen mit den Erdphosphaten niederschlägt.

Wenn man den so behandelten Harn filtrirt und dem Filtrat Kupfersulfat beifügt, erhält man grün-blaue Flocken, welche auf die Art von Landwehr behandelt, d. h. auf dem Filter gesammelt, gewaschen und in Salzsäure gelöst und mit Alkohol behandelt keinen Niederschlag geben. Hieraus ergibt sich, dass die Natronlauge die Substanz schon eliminirt hat. Dagegen erhält man einen Niederschlag bei Behandlung mit Salzsäure und mit Alkohol, wenn man Natronlauge und Kupfersulfat ohne vorherige Filtration zufügt. Die Flocken zeigen die Reactionen der Albuminsubstanzen und geben weder bei dieser Behandlung, noch auf anderem Wege eine reducirende Substanz. Dem thierischen Gummi Landwehr's ist der Körper in keiner Weise ähnlich.

Auch darf die Analogie der gliscrogenen Bacterien mit anderen Spaltpilzen, welche schleimige Substanzen in kohlehydrathaltigen Flüssigkeiten entstehen lassen, nicht zur Annahme verleiten, dass auch hier ein Kohlehydrat das Product der Thätigkeit sei.

Die gliscrogenen Bacterien gleichen in der That anderen bis jetzt bekannt gewordenen Bacterien, welche die Flüssigkeit, in der sie wachsen, schleimig machen, nur in diesem Punkte. Sie unterscheiden sich dagegen in morphologischer und biologischer Hinsicht, ebensowie hinsichtlich der Producte, die sie liefern.

In der That stellt der Bacillus viscosus sacchari (Kramer) Stäbchen dar, 1 μ breit und 2—5 μ lang, leicht an den Extremitäten zugerundet, und die Stäbchen bilden

oft Ketten bis zu 50 Gliedern. Sie zeigen keine eigenthümliche Bewegung ausser der Molecularbewegung. Sie verflüssigen die Gelatine; ihr Temperaturoptimum ist 22° C.; sie wachsen blos auf neutralen oder schwach alkalischen Nährböden.

Der Bacillus viscosus vini (Kramer) bildet Stäbchen von 0,6 oder 0,8 μ Breite und 2—6 μ Länge, zuweilen bis 14 μ. Dieser Spaltpilz gehört zu den anaerobien Bacterien und wächst nur auf sauren Nährböden. Kramer konnte ihn aber bis jetzt nicht auf soliden Nährböden züchten, sondern nur im Weine oder in saurer Lösung von Glucose[1]).

Das Milchbacterium von Schmidt-Mülheim bildet Micrococcen von 1 μ Durchmesser. Die morphologischen und biologischen Charaktere dieser Microorganismen sind daher sehr verschieden von denjenigen, welche das Gliscrobacterium kennzeichnen, wie man aus den bezeichneten Veröffentlichungen ersehen kann. Ueberdies scheint es, dass zwischen diesen und jenen noch der Unterschied besteht, dass das erstere die schleimige Substanz gibt als Product seiner Thätigkeit auch in Kohlehydrate nicht enthaltenden Lösungen, die anderen dagegen die charakteristische Eigenschaft besitzen, in den Kohlehydrate enthaltenden Flüssigkeiten schleimige Substanz zu bilden.

Neapel, April 1891.

Physiol. Inst. der königl. Universität.

---

[1]) Kramer, E., Studien über schleimige Gährung. Monatsbericht für Chemie, Bd. X, S. 467—505, 1889.

Ueber die Bildung von Milchsäure und Glycose im Organismus bei Sauerstoffmangel.

Zweite Mittheilung.

Ueber die Wirkung von Morphium, Amylnitrit, Cocaïn.

Von

Dr. T. Araki.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.)
(Der Redaction zugegangen am 6. Juli 1891.)

Am Ende meiner ersten Mittheilung über die Ausscheidung von Milchsäure und Zucker in Folge von Sauerstoffmangel[1]) habe ich (S. 370) bereits erwähnt, dass manche von Experimentatoren bereits beobachtete Zuckerausscheidungen in Folge von Vergiftung mit Morphium und Amylnitrit wahrscheinlich auf Sauerstoffmangel zu beziehen sein würden. Wenn diese Hypothese berechtigt war, musste auch die constantere Wirkung des Sauerstoffmangels, die Ausscheidung der Milchsäure, eine Folge der Vergiftung mit diesen giftigen Substanzen sein. Indem ich im Folgenden die bei meinen Versuchen erhaltenen Resultate schildere, füge ich zugleich die Ergebnisse bei, welche das Cocaïn in der gleichen Richtung ergeben hat.

I. Ueber das Morphin.

Aus Levinstein's Versuchen[2]) hatte sich ergeben, dass Zucker immer nach der Morphinvergiftung im Urin auftritt und oft, aber nicht constant, Eiweiss im Harne gefunden

---

[1]) Zeitschrift f. physiolog. Chemie, Bd. XV, S. 351.

[2]) Berl. klin. Wochenschrift, 1875, No. 48.

wird. Nach subcutaner Injection von Morph. hydrochl. 0,1 gr. haben von Mering und Musculus[1]) mehrfach im Urin ausser Reduction eine viel stärkere Linksdrehung beobachtet, als durch Morphin bedingt sein kann, selbst wenn man annimmt, dass alles Morphin unzersetzt in den Harn übergegangen sei.

Es ist wegen dieser spärlichen Angaben gewiss wünschenswerth, zunächst die Frage zu entscheiden, ob die Reduction, die der Harn nach der Einführung des Morphins in den Organismus zeigt, durch das Auftreten von Glycose oder durch eine andere unbekannte Substanz hervorgerufen wird.

Als Versuchsthiere dienten Frösche, Kaninchen und Hunde.

Versuche an Fröschen.

1. Versuch. 23. Februar 1891. Um 9 Uhr Vormittags wurden 13 Fröschen jedem 0,02 gr. Morph. hydrochl. unter die Haut eingespritzt. Gleich nach der Injection zeigten die Thiere gesteigerte Lebhaftigkeit, kletterten an der Wand der Gefässe empor und suchten zu entweichen. Nach 2 Stunden waren sie vollkommen betäubt. Am Abend 6 Uhr wurden 10 cbcm. Urin aus der Blase ausgepresst. Am anderen Morgen waren sie noch nicht zu sich gekommen, sie lieferten 35 cbcm. Harn. Die beiden Portionen von Urin wurden vereinigt und zur Darstellung der Milchsäure verwendet.

Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
45 cbcm.	neutral	fehlt	0,137 gr.

2. Versuch. 26. Februar 1891. Um 10 Uhr Vormittags erhalten 20 Frösche jeder für sich 0,02 gr. Morph. hydrochl. in die Lymphsäcke eingespritzt. Um 12 Uhr Vormittags wurden die Thiere schwerfällig in ihren Bewegungen. 3 Uhr Nachmittags waren sie ganz betäubt und beharrten in der Rücken-

[1]) Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 8, S. 666.

lage. 6 Uhr Nachmittags wurden 30 cbcm. Urin aus der Blase ausgepresst.

Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
30 cbcm.	neutral	fehlt	0,217 gr.

27. Februar 1891. Die Frösche waren noch betäubt und lieferten 39 cbcm. Urin.

Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
39 cbcm.	neutral	fehlt	0,248 gr.

Die von diesen Fröschen im Harne erhaltenen Zinklaktatportionen wurden vereinigt und eine Portion davon zur Zinkbestimmung verwendet.

0,145 gr. milchsaures Zink gab 0,059 Schwefelzink.

	Berechnet:	Gefunden:
Zink	26,74 %	26,89 %.

Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
45 cbcm.	neutral	fehlt	0,137 gr.
30 »	»	»	0,217 »
39 »	»	»	0,248 »

Versuche an Kaninchen.

Die Versuche wurden zuerst an Kaninchen bei guter Fütterung und dann im Inanitionszustande ausgeführt.

A. Bei guter Fütterung.

3. Versuch. 5. März 1891. Einem grossen und starken Kaninchen wurde um 9 Uhr Vormittags 0,05 Morph. hydrochl. unter die Haut eingespritzt. Um 10 Uhr 20 Min. Vormittags wurde das Thier unruhig, legte sich dann hin, die Athmung war sehr frequent. Um 1 Uhr war das Thier ganz ruhig und

die Respiration nicht mehr frequent, aber tiefer. Um 5 Uhr 15 Minuten Nachmittags wurde der Urin aus der Blase ausgepresst.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
80 cbcm.	alkalisch	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,32 gr.

Vom Ende des Versuches (von 6 Uhr Nachm.) bis zum nächsten Morgen hatte das Thier 40 cbcm. Urin gelassen.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
40 cbcm.	alkalisch	fehlt	sehr wenig vorhanden	0,141 gr.

4. Versuch. 6. März 1891. Dasselbe Kaninchen wie beim dritten Versuche. Das Thier war noch matt und etwas betäubt. Um 10 Uhr Vorm. wurde ihm 0,05 gr. Morph. hydrochl. subcutan eingespritzt. 10 Uhr 40 Min. Vorm. wurde die Athmung sehr frequent und allmälig schwächer. Um 11 Uhr schlief das Thier. Wenn man mit der Hand an den Kasten, in welchem das Thier sich befindet, schlägt, so erhebt es sich sofort. Um 6 Uhr 30 Min. wurden 67 cbcm. Urin aus der Blase ausgepresst.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
67 cbcm.	alkalisch	vorhanden sehr wenig	vorhanden in bedeut. Menge	0,35 gr.

5. Versuch. 8. März 1891. Einem mittelgrossen und munteren Kaninchen wurde um 9 Uhr 15 Min. Vorm. 0,06 gr. Morph. hydrochl. unter die Haut injicirt. Nach einigen Minuten wälzte es sich umher und die Athmung war sehr frequent. Um 11 Uhr legte es sich auf den Boden. Um 3 Uhr Nachm. wurden 58 cbcm. Urin aus der Blase ausgepresst. Von 3 Uhr bis 6 Uhr Nachm. schlief das Thier fest. Um 6 Uhr Nachm. lieferte es 21 cbcm. Urin. Die beiden

Portionen Urin wurden vereinigt und zur Prüfung von Zucker und Milchsäure verwendet.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
79 cbcm.	alkalisch	vorhanden sehr wenig	vorhanden in bedeut. Menge	0,291 gr.

B. Versuche an Kaninchen im Inanitionszustande.

Der Versuch wurde an einem Kaninchen, welches 5 Tage gehungert hatte, ausgeführt.

6. Versuch. 14. März 1891. Um 9 Uhr Vorm. wurde dem Thiere 0,06 gr. Morph. hydrochl. subcutan eingespritzt. 11 Uhr Vorm. war es vollkommen betäubt. Um 6 Uhr Nachm. lieferte es 55 cbcm. Urin.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
55 cbcm.	sauer	vorhanden sehr wenig	fehlt	0,025 gr.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
5./III.	80 cbcm.	alkalisch	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,32 gr.	Kaninchen bei guter Fütterung.
6./III.	67 »	»	vorhanden sehr wenig	»	0,35 »	
8./III.	79 »	»	»	»	0,291 »	
14./III.	55 »	sauer	»	fehlt	0,025 »	Kaninchen im Inanitionszustande.

Versuche an Hunden.

A. Bei Fleischfütterung.

7. Versuch. 2. März 1891. Der Hund wiegt 4,700 Kilo. Um 11 Uhr 35 Min. Vorm. wurde 0,01 gr. Morph. hydrochl. unter die Haut eingespritzt. Um 12 Uhr legte sich das Thier hin, die Respirationsfrequenz war sehr gesteigert. 3 Uhr Nachm. schlief der Hund ein, um 6 Uhr lieferte er Urin.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
45 cbcm.	sauer	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,052 gr.

Am anderen Morgen hatte der Hund Urin gelassen.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
87 cbcm.	sauer	fehlt	vorhanden sehr wenig	0,068 gr.

8. Versuch. 4. März 1891. Derselbe Hund wie bei dem 7. Versuche. Um 10 Uhr Vorm. wurde 0,02 gr. Morph. hydrochl. subcutan injicirt. Gleich nach der Injection wurde das Thier unruhig, legte sich jedoch nach einiger Zeit hin. Um 11 Uhr 40 Min. wurde es ganz ruhig und schlief ziemlich fest ein. Wenn man mit der Hand an den Kasten, in dem er sich befindet, stark schlägt, so erhebt er sofort seinen Kopf. Um 5 Uhr 20 Min. Nachm. gab er 162 cbcm. Urin.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
162 cbcm.	sauer	vorhanden sehr wenig	vorhanden in bedeut. Menge	0,175 gr.

Am anderen Morgen hatte das Thier 120 cbcm. Urin gelassen, in dem ich keine Spur von Milchsäure und Zucker nachweisen konnte.

9. Versuch. 7. März 1891. Eine kleine Hündin von 3,890 Kilo Gewicht. Um 9 Uhr Vorm. wurde ihr 0,02 gr. Morph. hydrochl. unter die Haut eingespritzt. Einige Minuten nach der Injection wurde sie unruhig und die Respiration sehr frequent. Um 12 Uhr legte sie sich hin, dabei wurde die Athmung tiefer und langsamer. Bei Berührung erhob sie sich und legte sich bald wieder hin. Um 5 Uhr Nachm. wurde 105 cbcm. Urin gelassen.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
105 cbcm.	sauer	vorhanden sehr wenig	vorhanden in bedeut. Menge	0,15 gr.

B. Versuche an Hunden im Inanitionszustande.

Zu diesem Versuche wurde dieselbe Hündin, nachdem sie 12 Tage gehungert hatte, verwendet.

10. Versuch. 19. März 1891. Um 9 Uhr 15 Min. Vorm. wurde 0,02 gr. Morphium hydrochlor. unter die Haut eingespritzt. Das Thier war um 10 Uhr Vorm. schon unruhig und die Athmung sehr frequent. 12 Uhr legte sie sich hin, die Respiration wurde langsamer und tiefer. Um 6 Uhr Nachm. liess sie 120 cbcm. Urin, der keine Spur von Zucker enthielt.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
120 cbcm.	sauer	vorhanden sehr wenig	fehlt	0,093 gr.

Sowohl wegen der schlechten Krystallisation, als auch der geringeren Quantität der Zinksalze, die ich aus Hundeharn dargestellt habe, ist es mir nicht gelungen, den Zinkgehalt gut zu bestimmen. Zucker wurde immer im Urin vom gut ernährten Hunde nachgewiesen, während Eiweiss manchmal nicht zum Vorschein kam. Die Vergiftungssymptome sind im Uebrigen übereinstimmend mit denen bei Kaninchen.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
2./III.	45 cbcm.	sauer	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,052 gr.	Hunde bei Fleischfütterung.
4./III.	162 »	»	vorhanden sehr wenig	»	0,175 »	
7./III.	105 »	»	»	»	0,15 »	
19./III.	120 »	»	»	fehlt	0,093 »	Hündin im Hungerzustande.

Wenn man einen Blick auf die bis jetzt ausgeführten Versuchsreihen wirft, so ist es nicht zweifelhaft, dass das Auftreten von Zucker und Milchsäure im Harn nach der Morphineingabe bei Thieren durch dieselbe Ursache bedingt wird, wie bei Kohlenoxyd und Curare diabetes — den Sauerstoffmangel, welcher sich bei der ungenügenden Ventilation

der Lunge einstellen muss. Das Athmen ist zwar im Anfang der Vergiftung frequent, aber diese Frequenz geht später in sehr langsame Athmung über, und wenn dann auch die Inspirationen tief erscheinen, sind sie doch offenbar ungenügend, die normale Ventilation des Blutes zu unterhalten, wie es von Schmiedeberg, Grundriss, S. 23, sehr charakteristisch geschildert ist.

II. Ueber das Amylnitrit.

Es ist schon festgestellt, dass Amylnitrit nach seiner Einführung in den thierischen Organismus das Auftreten von Zucker im Harne bewirkt. Diese Erscheinung hat A. Hoffmann[1]) zuerst bei Kaninchen beobachtet. Er injicirte 0,4—0,6 gr. Amylnitrit und erhielt darauf nach 2—5 Stunden Zucker im Harne, der nach 12—30 Stunden wieder verschwand. Sebold[2]) hat Hoffmann's Beobachtungen bestätigt und zugleich Eiweiss im Harne gefunden. Neuerdings machte Thiel[3]) an mehreren Hühnern subcutane Injection von Amylnitrit, es gelang aber ihm niemals, Zucker im Harne nachzuweisen, trotzdem die Dosis von 0,2—0,3 gr. allmälig bis zu tödtlichen Dosen (2,0—3,0) gesteigert wurde.

Um zu entscheiden, ob diese nicht constant beobachtete Glycosurie dieselben Abhängigkeitsverhältnisse zeige wie bei der Vergiftung mit Morphin, Curare, Kohlenoxyd, wurden die folgenden Versuche angestellt.

Das Amylnitrit wurde stets vor seiner Anwendung mit Soda ausgewaschen, bis die Säurereaction, die mit der Zeit durch die frei werdende salpetrige Säure stets hervorgerufen wird, vollkommen verschwunden war.

Was die Art und Weise der Application des Mittels betrifft, so habe ich es theils direct unter die Haut eingespritzt, theils es auf Watte geträufelt und einathmen gelassen.

---

1) Archiv für Anatomie und Physiologie, 1873, S. 746.

2) Ueber Amylnitrit-Diabetes, Diss., Marburg 1874.

3) Archiv f. experimentelle Pathologie u. Pharmakologie, Bd. XXIII, S. 144.

Als Versuchsthiere wurden Kaninchen und ein Hund verwendet, denn die Frösche gingen bei dieser Vergiftung, selbst wenn die Dosis sehr gering war, zu schnell zu Grunde und gaben niemals genügende Quantität von Urin.

Versuche an Kaninchen.

A. Bei guter Fütterung.

11. Versuch. 29. April 1891. Einem grossen Kaninchen wurde um 9 Uhr Vorm. eine halbe Spritze voll Amylnitrit unter die Haut injicirt. 9 Uhr 30 Min. Vorm. erweiterten sich die Gefässe der Ohren, die Athmung war sehr frequent. Um 3 Uhr Nachm. wurde eine halbe Spritze voll Amylnitrit subcutan eingespritzt. Um 6 Uhr Nachm. wurden 23 cbcm. Urin aus der Blase ausgepresst.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
23 cbcm.	neutral	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,465 gr.

Am anderen Morgen hat das Thier 100 cbcm. Urin, der keine Spur von Zucker enthielt, gelassen. Diese Portion wurde nicht auf Milchsäure untersucht.

12. Versuch. 2. Mai 1891. Dasselbe Kaninchen wie beim 11. Versuche. Um 9 Uhr Vorm. wurde das Thier durch die Einathmnng des Amylnitrit vollkommen vergiftet. Die Anwendung fand in der Weise statt, dass die mit 10 Tropfen Amylnitrit benetzte Watte auf den Boden eines Becherglases gebracht und dieses sogleich über die Schnauze des Thieres gestülpt wurde.

Gleich nach der Inhalation war die Athmung sehr frequent und die Gefässe der Ohren erweiterten sich. Um 10 Uhr legte sich das Thier auf den Boden, starke Dyspnoe. Um 1 Uhr Nachm. wieder 8 Tropfen Amylnitrit eingeathmet. 3 Uhr Nachm. wurden 44 cbcm. Urin aus der Blase ausgepresst. 3 Uhr 30 Min. 8 Tropfen Amylnitrit inhalirt. 6 Uhr Nachm. lieferte das Thier 18 cbcm. Urin.

Die beiden Portionen von Urin wurden vereinigt und zur Darstellung von Milchsäure verwendet.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
62 cbcm.	neutral	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	2,102 gr.

13. Versuch. 5. Mai 1891. Grosses Kaninchen wurde um 9 Uhr Vorm. durch die Einathmung des Amylnitrit stark vergiftet. Um 12 Uhr Vorm. war das Thier zu Grunde gegangen. Aus der Blase habe ich 25 cbcm. Urin gewonnen.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
25 cbcm.	alkalisch	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0;73 gr.

B. Kaninchen im Hungerzustande.

14. Versuch. Der Versuch wurde an einem Kaninchen, welches 4 Tage im Hungerzustande war, angestellt.

10. Mai 1891. Das Thier wurde um 9 Uhr 15 Min. Vorm. durch Inhalation von Amylnitrit stark vergiftet. Die Inhalation wurde um 3 Uhr Nachm. wiederholt. 6 Uhr Nachm. lieferte das Thier 30 cbcm. Urin.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
30 cbcm.	sauer	vorhanden sehr wenig	fehlt	0,438 gr.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
29./IV.	23 cbcm.	neutral	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,465 gr.	Kaninchen bei guter Fütterung.
2./V.	62 »	»	»	»	2,102 »	
5/V.	25 »	alkalisch	»	»	0.730 »	
10./V.	30 »	sauer	vorhanden sehr wenig	fehlt	0,438 »	Kaninchen im Hungerzustande.

Die dargestellten Zinksalze wurden durch mehrmalige Umkrystallisation vollkommen gereinigt und eine Portion davon zur Zinkbestimmung verwendet.

0,115 gr. milchs. Zink gaben 0,030 gr. Schwefelzink.

Berechnet:	Gefunden:
26,74% Zink	26,14% Zink.

Wie die obige Tabelle zeigt, ist von den mit Amylnitrit vergifteten Kaninchen Milchsäure in so enormer Quantität im Harne ausgeschieden, wie in keiner bis jetzt von mir beobachteten anderweitigen Vergiftung.

Um so auffallender ist daneben der Mangel an Eiweiss im Harne, während die Glycosurie dieselben Beziehungen zum Ernährungszustand zeigt, die schon in allen bisher geschilderten Versuchen über Sauerstoffmangel beobachtet sind.

Versuche an Hunden mit Amylnitrit.

A. Bei Fleischfütterung.

15. Versuch. 1. Mai 1891. Mittelgrosse Hündin von 4,600 Kilo Körpergewicht wurde um 9 Uhr Vorm. durch die Inhalation von Amylnitrit stark vergiftet. 10 Uhr Vorm. hat das Thier gelblich schaumige Massen erbrochen. Sie legte sich dann hin, die Athmung wurde sehr frequent. Um 1 Uhr Nachm. wurde die Inhalation wiederholt. 2 Uhr Nachm. war sie schwerfällig und die Respiration noch frequent. 5 Uhr Nachm. hat das Thier 80 cbcm. Urin geliefert.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
80 cbcm.	sauer	vorhanden sehr wenig	vorhanden in bedeut. Menge	0,214 gr.

Nächsten Morgen hatte die Hündin 250 cbcm. Urin, der keine Spur von Zucker und Eiweiss enthielt, gelassen. Ich habe den Urin auf Milchsäure nicht untersucht.

16. Versuch. 4. Mai 1891. Dieselbe Hündin wie beim 15. Versuch. Sie wurde um 10 Uhr Vorm. durch die Einathmung von Amylnitrit vergiftet. Um 1 Uhr Nachm. und

4 Uhr Nachm. wurde die Einathmung wiederholt. Das Thier hat während des Versuches dreimal gelblich-schaumige Flüssigkeit mit dem Ansehen von Galle erbrochen und um 6 Uhr Nachm. 74 cbcm. Urin geliefert.

Urinmenge.	Reaction	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
74 cbcm.	sauer	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,199 gr.

Am anderen Morgen war 120 cbcm. Urin, der keine Spur von Zucker und Eiweiss enthielt, gelassen.

Aus diesem Harne habe ich 0,05 gr. Zinksalz, das ziemlich gut krystallisirt ist, dargestellt.

17. Versuch. 6. Mai 1891. Dieselbe Hündin wie beim 16. Versuche. Sie wurde 9 Uhr Vorm. mit Amylnitrit vergiftet. Um 3 Uhr Nachm. wurde die Inhalation von Amylnitrit wiederholt. 6 Uhr 30 Min. Nachm. wurden 92 cbcm. Urin gelassen.

Urinmenge.	Reaction	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
92 cbcm.	sauer	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,23 gr.

B. Versuche an Hunden im Hungerzustande.

Als Versuchsthier diente die Hündin, die 12 Tage im Hungerzustand war.

18. Versuch. 19. Mai 1891. Sie wurde um 9 Uhr Vorm. mit Amylnitrit stark vergiftet. Um 1 Uhr Nachm. wurde die Inhalation wiederholt.

Während des Versuches hat das Thier mehrmals gelblich-schaumige Flüssigkeit erbrochen, und um 7 Uhr Nachm. 30 cbcm. Urin geliefert.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
30 cbcm.	sauer	fehlt	fehlt	0,016 gr.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.	
1./V.	80 cbcm.	sauer	vorhanden sehr wenig	vorhanden in bedeut. Menge	0,214 gr.	Hündin bei Fleischfütterung.
4./V.	74 »	sauer	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,199 »	
6./V.	92 »	sauer	fehlt	vorhanden in bedeut. Menge	0,237 »	
19./V.	30 »	sauer	fehlt	fehlt	0,016 »	Hündin im Hungerzustande.

Die gewonnenen Zinksalze wurden zuerst gereinigt und dann deren Zinkgehalt bestimmt.

0,12 gr. milchs. Zink gaben 0,045 gr. Schwefelziuk.

	Berechnet:	Gefunden:
Zink	26,74 %	25,08 %.

Die am Hunde erhaltenen Resultate sind etwas getrübt durch das constant auftretende Erbrechen, und die Ausscheidung von Milchsäure im Harne zeigt durchaus nicht die auffallende Höhe, welche bei den Kaninchen beobachtet ist. Die Glycosurie in ihrer Abhängigkeit vom Ernährungszustande ist auch hier vorhanden und der Mangel an Eiweiss im Harne mit Ausnahme des ersten Versuches in Uebereinstimmung mit den Beobachtungen am Kaninchen.

III. Ueber das Cocaïn.

Versuche an Fröschen.

19. Versuche. 6. Juni 1891. 20 Fröschen wurde 10 Uhr Vorm. Cocaïnlösung in Lymphsäcke (jeder erhielt 0,02 gr. Cocaïn hydrochl.) eingespritzt. Einige Minuten nach der Einspritzung legten sich die Thiere flach auf den Bauch. Die hinteren Extremitäten sind ausgestreckt und und können nicht mehr an den Bauch angezogen werden.

Am Abend lieferten sie 20 cbcm. Urin, in dem keine Spur von Zucker sich nachweisen lässt.

Am folgenden Tage waren sie noch betäubt und hatten 23 cbcm. Urin gegeben. Die beiden Portionen von Urin

wurden vereinigt und zur Darstellung der Milchsäure verwendet.

Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
43 cbcm.	alkalisch	fehlt	0,017 gr.

20. Versuch. 12. Juni 1891. 18 Frösche wurden mit Cocaïn stark vergiftet, sie lieferten am Abend 24 cbcm. und am anderen Morgen 27 cbcm. Urin.

Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
51 cbcm.	neutral	fehlt	0,015 gr.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
6.—7./VI.	43 cbcm.	alkalisch	fehlt	0,017 gr.
12.—13./VI.	51 »	neutral	»	0,015 »

Versuche an Kaninchen.

21. Versuch. 7. Juni 1891. Einem grossen Kaninchen wurde 9 Uhr Vorm. 0,04 gr. Cocaïn hydrochl. unter die Haut eingespritzt. Einige Minuten nach der Injection wurde das Thier unruhig, es spitzte seine Ohren hoch und fing an, lebhafte grosse Sprünge zu machen. 9 Uhr 30 Min. Vorm. wurde es unbeweglich und blieb mit beschleunigter Respiration auf derselben Stelle sitzen. 9 Uhr 50 Min. fiel es auf die Seite. 12 Uhr Vorm. wurde es wieder gesund und munter und zeigte keine Mattigkeit. 1 Uhr Nachm. wurden 60 cbcm. Urin aus der Blase ausgepresst.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
60 cbcm.	alkalisch	fehlt	fehlt	0,12 gr.

22. Versuch. 8. Juni 1891. Demselben Kaninchen, wie beim 21. Versuche, wurden 10 Uhr Vorm. 0,05 gr. Cocaïn hydrochl. subcutan eingespritzt. Um 1 Uhr 20 Min. Nachm. lieferte es 82 cbcm. Urin.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
82 cbcm.	alkalisch	vorhanden wenig	vorhanden in bedeut. Menge	0,281 gr.

23. Versuch. 12. Juni 1891. Grosses Kaninchen wurde 9 Uhr Vorm. mit 0,05 gr. Cocaïn hydrochl. vergiftet. 12 Uhr Vorm. hat es 30 cbcm. Urin, der keine Spur von Zucker enthielt, gelassen.

3 Uhr Nachm. wurde 0,02 gr. Cocaïn hydrochl. unter die Haut eingespritzt. Um 4 Uhr wurden 25 cbcm. Urin, in dem ich auch keine Spur von Zucker nachweisen konnte, aus der Blase ausgepresst.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
55 cbcm.	alkalisch	vorhanden sehr wenig	fehlt	0,117 gr.

24. Versuch. 15. Juni 1891. Mittelgrosses Kaninchen wurde 11 Uhr Vorm. durch Gaben von 0,05 gr. Cocaïn hydrochl. vergiftet. Um 1 Uhr Nachm. hat es 47 cbcm. Urin gelassen.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
47 cbcm.	alkalisch	vorhanden sehr wenig	fehlt	0,032 gr.

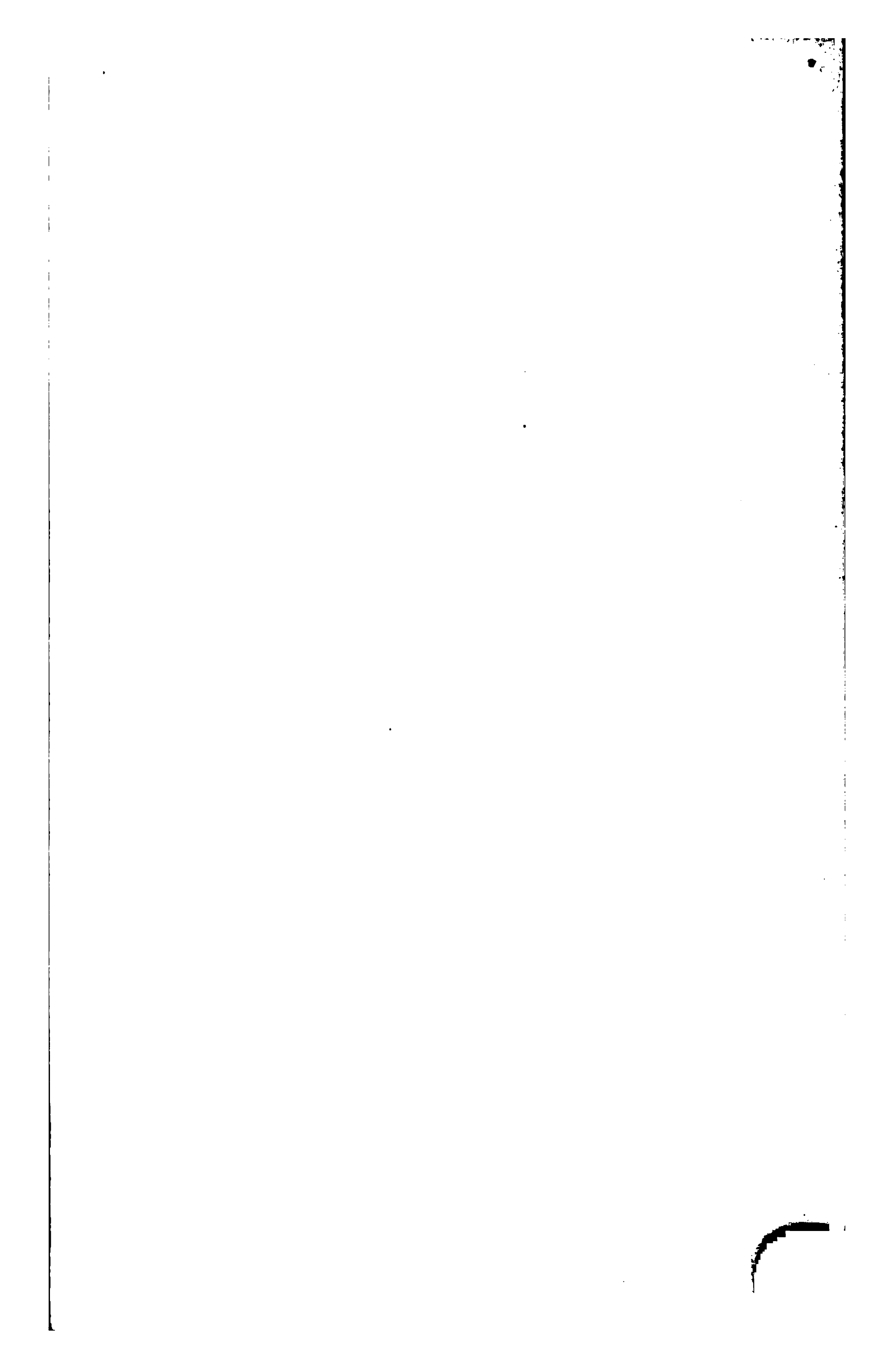
Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchs. Zink.
7./VI.	60 cbcm.	alkalisch	fehlt	fehlt	0,120 gr.
8./VI.	82 »	»	vorhanden wenig	vorhanden in bedeut. Menge	0,281 »
12./VI.	55 »	»	vorhanden sehr wenig	fehlt	0,117 »
15./VI.	47 »	»	vorhanden sehr wenig	»	0,032 »

0,164 gr. milchsaures Zink aus den vereinigten Quantitäten gab bei der Verbrennung mit Schwefel etc. 0,064 gr. Zn S.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %	26,09 % Zink.

Bei einer Vergleichung der im Harne der Versuchsthiere gefundenen Milchsäurequantitäten bei der Einwirkung von Morphium, Amylnitrit und Cocaïn lässt sich nicht verkennen, dass das Amylnitrit die beiden anderen Narcotica in der Stärke der Milchsäureausscheidung weit übertrifft, während die Wirkung des Morphium und des Cocaïn nicht auffallende Verschiedenheiten bei den verwendeten Gaben zeigt. Die Untersuchung wird von mir auch auf andere Narcotica ausgedehnt, sobald die von mir begonnenen Untersuchungen der Phosphorvergiftung und der Störungen der Anhydrid-, speciell der Esterbildung im Organismus durch Sauerstoffmangel zum Abschluss gekommen sein werden.

Strassburg, den 6. Juli 1891.



ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

Prof. E. BAUMANN in Freiburg, Prof. GÄHTGENS in Giessen, Prof. O. HAMMARSTEN in Upsala, Prof. HÜFNER in Tübingen, Prof. HUPPERT in Prag, Prof. JAFFE in Königsberg, Prof. E. LUDWIG in Wien, Prof. E. SALKOWSKI in Berlin und Prof. E. SCHULZE in Zürich

herausgegeben von

F. HOPPE-SEYLER,

Professor der physiologischen Chemie an der Universität Strassburg.

SECHZEHNTER BAND.

STRASSBURG

VERLAG VON KARL J. TRÜBNER

1892.



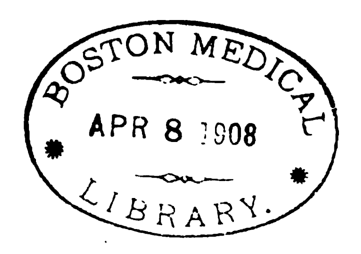
Inhalt des sechzehnten Bandes.

Heft I und II.

Heft III.

Heft IV und V.

Heft VI.



Ueber Adenin und Hypoxanthin.

Von

G. Bruhns und **A. Kossel.**

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 1. August 1891.)

1. Das Molekulargewicht des Adenins
von **A. Kossel.**

Auf Grund der Analysen des Adenins, seiner Salze und seiner Verbindungen mit Metalloxyden, mit Alkohol- und Säureradicalen habe ich die Formel $C_5H_5N_5$ für diese Base aufgestellt. Es schien mir zur Vervollständigung meiner früheren Angaben wünschenswerth, diese Annahme durch eine der neueren Methoden zur Molekulargewichts-Bestimmung zu controlliren und insbesondere die Formel $C_{10}H_{10}N_{10}$ oder ein anderes Multiplum auszuschliessen.

Die Untersuchungen wurden nach dem von Beckmann beschriebenen Verfahren[1]) der Siedemethode ausgeführt; als Lösungsmittel diente Eisessig. Die ersten Versuche hatten den Zweck, die von Beckmann bereits festgestellte molekulare Siedepunktserhöhung mit den von uns benutzten Reagentien und Apparaten zu prüfen.

[1]) Zeitschrift für physikalische Chemie, Bd. 4, S. 532.

Es ergaben sich folgende Werthe für die beiden zur Untersuchung verwandten Sorten A und B:

Eisessig A.

Angewandte Substanz:	Gefundene molekulare Erhöhung:
Benzoësäure	25,5
»	26,3
»	25,9
Anthracen	26,7
»	26,9
»	26,3

Eisessig B.

Angewandte Substanz:	Gefundene molekulare Erhöhung:
Benzoësäure	26,7
»	27,2
»	27,4
Salicylsäure	28,5
»	28,7
»	28,8
»	28,8
Benzil	29,2
»	28,7
»	28,0
»	27,6

Die gefundenen Werthe stimmen mit den von Beckmann gewonnenen Zahlen, sowie mit der berechneten molekularen Erhöhung 25,3 hinreichend überein.

Die Untersuchungen von Adenin ergaben bei Annahme einer molekularen Erhöhung von 25,3 folgende Resultate:

Eisessig A.

I.

Menge d. Eisessigs 49,1 gr. Bar. 762,5.

	Substanzmenge:	Gefundene Erhöhung:	Gefundenes Molekulargewicht:
1.	0,7415	0,324	118

II.

Menge d. Eisessigs 46,6 gr. Bar. 762,5.

	Substanzmenge:	Gefundene Erhöhung:	Gefundenes Molekulargewicht:
2.	0,5660	0,269	114,3
3.	1,0065	0,480	113,8

Eisessig B.

III.

Menge d. Eisessigs 47,4 gr. Bar. 763,5.

	Substanzmenge:	Gefundene Erhöhung:	Gefundenes Molekulargewicht:
4.	0,3380	0,168	107,4
5.	0,7250	0,348	111,3
6.	1,2305	0,580	113,3

IV.

Menge d. Eisessigs 45,45 gr. Bar. 750.

	Substanzmenge:	Gefundene Erhöhung:	Gefundenes Molekulargewicht:
7.	0,4485	0,209	119,4

Das nach der Formel $C_5H_5N_5$ berechnete Molekulargewicht ist 135. Die gefundenen Zahlen stehen diesem Werth hinreichend nahe, um ihn als den richtigen erscheinen zu lassen, und schliessen insbesondere die Annahme der Formel $C_{10}H_{10}N_{10}$ aus.

Die Abweichung des gefundenen von dem berechneten Molekulargewicht ist wohl in ähnlicher Weise aufzufassen,

wie die von Beckmann bei der Untersuchung des Natriumacetats beobachtete Differenz.

2. Ueber die Einwirkung von Aethylchlorocarbonat auf Hypoxanthin

von A. Kossel.

Die Constitution der Harnsäure, des Xanthins und seiner natürlich vorkommenden Derivate (Theobromin, Theophyllin und Caffeïn) ist vornehmlich durch Oxydationsversuche erschlossen worden, welche den charakteristischen, in diesen Körpern enthaltenen «Alloxankern» enthüllten. Im Gegensatz dazu setzt das Hypoxanthin und das Adenin (welche keine Xanthinderivate sind und daher auch nicht mit dem Namen «Xanthinkörper» bezeichnet werden dürfen) den Oxydationsmitteln einen kräftigen Widerstand entgegen, so dass das Vorhandensein einer Alloxangruppe in den genannten Körpern noch zweifelhaft ist.

Zur Entscheidung dieser wichtigen Frage habe ich verschiedene Derivate des Hypoxanthins und Adenins dargestellt, da ich hoffte, durch Einführung saurer Gruppen in das Molekül leichter oxydirbare Verbindungen zu erhalten. Für diesen Zweck untersuchte ich auch die Einwirkung von Aethylchlorocarbonat auf Hypoxanthin.

4 gr. reines salzsaures Hypoxanthin wurden mit 3 gr. Natronhydrat und 5 gr. Aethylchlorocarbonat allmälig unter fortwährendem Umschütteln versetzt und nach 24 Stunden der abgeschiedene Niederschlag abfiltrirt. Derselbe wurde sodann aus heissem Wasser umkrystallisirt und in Form schiefwinkliger, langgestreckter Tafeln von ca. 7 mm. Länge und 1 mm. Breite erhalten. Dieselben lassen häufig einen Winkel von 50° erkennen, die Auslöschungsrichtung ist einem der Schenkel dieses Winkels parallel. Die Krystalle schmolzen unscharf zwischen 185 und 190°.

Die Substanz ist unlöslich oder schwer löslich in kaltem oder heissem Alkohol, in Aether und in kaltem Wasser, leicht löslich in heissem Wasser, in Natronlauge und in Salzsäure.

Die Analyse ergab folgende Zahlen:

	Berechnet für $C_5H_3N_4O - CO_2 - C_2H_5$:	Gefunden:
C	46,15	46,24
H	3,84	4,20
N	26,90	26,84

Der analysirte Körper ist demnach als Urethan des Hypoxanthins zu betrachten.

Für die Oxydationsversuche erwies sich die Substanz nicht als brauchbar. Ich habe die Versuche in dieser Richtung aufgegeben, da ich fand, dass man sich dem Ziel auf anderem Wege nähern kann. Ich machte die Beobachtung, dass man beim Eindampfen von Adenin mit Bromwasser und Salpetersäure auf dem Wasserbade einen Rückstand erhält, welcher sich mit Alkalien roth färbt. Diese Reaction kann zur Erkennung des Adenins und Hypoxanthins unter Umständen Verwendung finden, da sie schon durch geringe Mengen der Basen hervorgerufen wird. Beim Eindampfen mit Salpetersäure allein zeigen die Basen diese Erscheinung nicht.

Da ich nach diesem Verhalten vermuthete, dass die Einführung des Broms in das Adeninmolekül dieses für die Einwirkung der Oxydationsmittel zugänglich macht, so habe ich Herrn Dr. G. Bruhns aufgefordert, die Bromderivate des Adenins darzustellen und zu untersuchen. Die Resultate dieser Untersuchung sind in der folgenden Mittheilung enthalten. Die Versuche werden in der von mir angedeuteten Richtung von Herrn Dr. M. Krüger im hiesigen Laboratorium fortgesetzt.

Herrn Dr. M. Krüger, dessen werthvolle Hülfe ich bei den mitgetheilten Untersuchungen genoss, statte ich meinen besten Dank ab.

3. Ueber ein Bromirungsproduct des Adenins

von Gusta[illegible]

[illegible] Veränd[illegible] Verhältnisse gehindert
[illegible]denin und Hypoxanthin,
[illegible]. XIV, S. 533, veröffent-

lichte, fortzusetzen, so theile ich im Folgenden die mit dem dort erwähnten Bromadenin angestellten Versuche mit.

Uebergiesst man scharf getrocknetes Adenin mit trocknem Brom, so bildet sich nach kurzer Zeit unter Erwärmung des Gemisches, die sich bei grösseren Mengen bis zum Sieden des überschüssigen Broms steigern kann, ein schwerer dunkelrother Körper.

I. 5 gr. Adenin lieferten 22,9 gr. dieses Körpers (nachdem derselbe durch halbstündiges Erwärmen auf dem Wasserbade vom mechanisch anhaftenden Brom befreit worden war).

II. 4,1 gr. Adenin lieferten 18,8 gr., durch 24 stündiges Liegen an der Luft vom überschüssigen Brom befreit.

III. 6,042 gr. Adenin gaben 27,86 gr.

Da bei der Reaction kein Bromwasserstoff entweicht, so muss das Product hinsichtlich seiner empirischen Zusammensetzung als Adenin + Brom betrachtet werden können. Hiernach habe ich die Anzahl der aufgenommenen Bromatome zu 6 für jede Molekel Adenin berechnet. Für den Körper $C_5H_5N_5Br_6$ ergeben sich die Ausbeuten aus den angewandten Mengen Adenin zu I. 22,8 gr., II. 18,7 gr. und III. 27,5 gr. Das im Vergleich zu der durch jedes neu hinzutretende Bromatom verursachten Gewichtsvermehrung nur unbedeutende Plus der thatsächlichen Ausbeuten rührt davon her, dass der Körper einen kleinen Rest von Brom ziemlich lange mechanisch zurückhält.

Bei sehr langem Liegen an der Luft, schneller beim Erhitzen auf 100 bis 120°, wird der rothe Körper hellgelb und verliert stark an Gewicht. Es entweicht dabei Brom, anfangs in der Hitze sichtbar, später nur durch den Geruch bemerkbar. Der gelblich gefärbte Rückstand ist ein Gemisch des Körpers $C_5H_4N_5Br$, also eines Bromadenins, mit dessen brom[illegible]sserstoffsaurem Salz $C_5H_4BrN_5$, HBr. Hiermit stimmt [illegible] ein; denn die im Versuch I erhaltenen 22,9 gr. [illegible]luctes lieferten nach 15 stündigem Erwärmen [illegible]is zur eintretenden Gewichtsconstanz 10,7 gr. [illegible]end aus 5 gr. Adenin 7,93 gr. $C_5H_4N_5Br$ oder $C_5H_4N_5Br$, HBr erhalten werden sollten.

Schneller lässt sich das Bromadenin durch die Einwirkung von Natriumbisulfit aus dem rothen Körper erhalten[1]). Trägt man diesen in eine gesättigte Lösung des Salzes ein, so wird er sofort entfärbt und löst sich dann vollständig auf. Aus der Flüssigkeit lässt sich das Bromadenin durch Versetzen mit Ammoniak bis zur neutralen Reaction gegen Lackmus fast quantitativ in Gestalt eines weissen, undeutlich krystallinischen Niederschlages ausfällen. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus Wasser unter Zusatz von etwas Ammoniak ist der Körper völlig rein.

In dieser Art wurden die obigen Versuche II und III zu Ende geführt und lieferten 6,2 und 9,4 gr. rein weisses Bromadenin, während sich 6,5 und 9,58 gr. berechnen.

Aus der Zerlegung ergibt sich für die chemische Natur des rothen Körpers mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass derselbe ein bromwasserstoffsaures Bromadenintetrabromid ist und die Reaction in folgenden drei Phasen verläuft:

$$C_5H_5N_5 + Br_2 = C_5H_4N_5Br + HBr,$$
$$C_5H_4N_5Br + HBr = C_5H_4N_5Br, HBr,$$
$$C_5H_4BrN_5, HBr + 2Br_2 = C_5H_4BrN_5, Br_4, HBr.$$

In einer vorläufigen Mittheilung[2]) habe ich ihn kurz als «Adeninbromid» bezeichnet, dieser Name wäre dann natürlich durch den etwas unbequemeren, aber genaueren zu ersetzen.

Endlich würde die Fähigkeit des Adenins, vier Atome Brom zu addiren, auf das Vorhandensein zweier doppelten Bindungen in seiner Molekel hindeuten.

Das Bromadenin stellt, aus Wasser umkrystallisirt, mikroskopische Nadeln und sehr dünne Blättchen vor und nimmt beim Trocknen an der Luft häufig lebhaften Seidenglanz an. Aus verdünntem Ammoniak krystallisirt es in grösseren, sternförmig gruppirten Nadeln.

---

[1]) Später habe ich die Umwandlung noch vortheilhafter durch Ammoniak ausgeführt, in welchem sich der Körper unter heftigem Zischen farblos auflöst.

[2]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 23, S. 229.

Je nachdem die Krystallisation bei gewöhnlicher oder bei höherer Temperatur vor sich geht, ist das resultirende Product mehr oder weniger krystallwasserhaltig. Der höchste beobachtete Gewichtsverlust bei der Erhitzung auf 120° betrug 12,98%, während sich für die Formel $C_5H_4BrN_5 + 2H_2O$ 14,4% Wasser berechnen. Beginnt die Krystallisation schon oberhalb 60°, so ist der Körper nahezu wasserfrei und von feinpulverig krystallinischer Structur.

Bei 120° getrocknet, besitzt das Bromadenin die Zusammensetzung $C_5H_4BrN_5$.

I. 0,2183 gr. gaben nach der Carius'schen Methode 0,1919 gr. AgBr.

II. 0,2032 gr. von einer anderen Darstellung lieferten beim Schmelzen mit Soda und Salpeter und Ausfällung mit $AgNO_3$ 0,1776 gr. AgBr.

III. 0,1207 gr. von einer dritten Darstellung gaben beim Kochen mit $AgNO_3$ und HNO_3 0,1055 gr. AgBr.

IV. 0,1271 gr. lieferten 35,9 cbcm. N bei 15° und 756 mm. (20°).

V. 0,2591 gr. gaben 0,2655 gr. CO_2 und 0,0487 gr. H_2O.

	Berechnet f. d. Formel $C_5H_4BrN_5$:	Gefunden: I.	II.	III.	IV.	V.
C	28,04	—	—	—	—	27,93
H	1,87	—	—	—	—	2,09
Br	37,38	37,39	37,20	37,20	—	—
N	32,72	—	—	—	32,9	—

Das Bromadenin ist in kaltem Wasser sehr schwer löslich (500 cbcm. bei mittlerer Temperatur gesättigt hinterliessen 0,0503 gr., demnach rund 1 : 10000), in siedendem nur etwa doppelt so stark, sehr leicht aber in Ammoniak und in fixen Alkalien. Verdünnte Mineralsäuren lösen es ziemlich leicht, besonders beim Erwärmen, und es bilden sich dabei Salze, die in kaltem Wasser schwer löslich sind, bei Gegenwart überschüssiger Säure aber etwas leichter. Ich analysirte dieselben in der Weise, dass ich sie zunächst in möglichst wenig Ammoniak vollständig löste, dann den Ueberschuss desselben durch Verdunstung an der Luft oder über Schwefelsäure vollständig entfernte (bis zur neutralen Reaction gegen Lackmus) und das hierbei krystallisirt ausgeschiedene Bromadenin bei 120° trocknete. Im Filtrat (welches nur noch Spuren der

Base enthielt) konnte die Säure auf dem gewöhnlichen Wege bestimmt werden.

Das schwefelsaure Bromadenin entspricht der Formel $(C_5H_4BrN_5)_2$, $H_2SO_4 + 6\,H_2O$.

I. 0,7191 gr. (lufttrocken) verloren bei 120° 0,1224 gr. Wasser.
II. 0,3094 gr. des hierbei erhaltenen Präparates gaben 0,2509 gr. Bromadenin und 0,1361 gr. $BaSO_4$.

	Berechnet f. d. Formel $(C_5H_4BrN_5)_2H_2SO_4$:	Gefunden:
2 $C_5H_4BrN_5$	81,37	81,06
H_2SO_4	18,63	18,49
	100.00	99,55

Salzsaures Bromadenin: $C_5H_4BrN_5$, HCl (bei 120°).

0,2394 gr. gaben 0,2039 gr. Bromadenin und 0,1394 gr. AgCl.

	Berechnet f. d. Formel $C_5H_4BrN_5$, HCl:	Gefunden:
$C_5H_4BrN_5$	85,43	85,18
HCl	14,57	14,81
	100,00	99,99

Salpetersaures Bromadenin: $C_5H_4BrN_5$, HNO_3 (bei 110°).

0,4246 gr. gaben 0,3249 gr. Bromadenin.

	Berechnet f. d. Formel $C_5H_4BrN_5$, HNO_3:	Gefunden:
$C_5H_4BrN_5$	77,25	76,50

Das pikrinsaure Bromadenin ist dem pikrinsauren Adenin in seinen Eigenschaften ausserordentlich ähnlich und fällt unter denselben Bedingungen als Niederschlag aus. Es entspricht der Formel $C_5H_4BrN_5$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$, zeigt fast dieselbe Löslichkeit in kaltem Wasser (250 cbcm. bei 15—20° gesättigt enthielten 0,0776 gr., also 1 : 3220) und ebenfalls die Eigenschaft, durch Natriumpikratlösung fast vollständig ausgefällt zu werden. Unter dem Mikroskop lässt es sich jedoch leicht vom pikrinsauren Adenin unterscheiden, da es keine deutlichen Krystalle, sondern ganz charakteristische Büschel von fadenförmig dünnen Nadeln bildet, die selbst bei stärkerer Vergrösserung keine messbare Breitendimension besitzen. Wegen dieser feinen Zertheilung ist das Salz noch

voluminöser, als das Adeninpikrat, und nimmt beim Absaugen der Mutterlauge leicht eine kittartige Beschaffenheit an.

I. 0,2614 gr. (lufttrocken) verloren bei 110° 0,0103 gr. Wasser = 3,94 %.
Berechnet für 1 Mol. Krystallwasser: 3,91 %.
II. 0,1520 gr. (bei 110° getrocknet) gaben 0,0645 gr. AgBr.
III. 0,2520 gr. gaben 0,2744 gr. CO_2 und 0,0385 gr. H_2O.
IV. 0,1505 gr. gaben 33,8 cbcm. N bei 762,5 mm. und 23°.

	Berechnet f. d. Formel	Gefunden:		
	$C_5H_4BrN_5, C_6H_2(NO_2)_3OH$:	II.	III.	IV.
C	29,80	—	29,69	—
H	1,58	—	1,70	—
N	25,28	—	—	25,43
Br	18,06	18,06	—	—

Die Metallderivate des Bromadenins erwiesen sich, soweit ich sie bis jetzt untersucht habe, durchaus denen des Adenins analog. Mit ammoniakalischer Silberlösung erhält man Producte, deren Silbergehalt sie als Gemische der Verbindungen $C_5H_3AgBrN_5$ und $C_5H_2Ag_2BrN_5$, H_2O charakterisirt. Neutrale oder salpetersaure Silbernitratlösung erzeugt in der Kälte einen gelatinösen Niederschlag, der ebenso wenig, wie das Adeninsilbernitrat, von constanter Zusammensetzung ist, da sein Silbergehalt 3 bis 6 % höher liegt, als der für die Formel $C_5H_4BrN_5$, $AgNO_3$ berechnete. Durch vorsichtiges Erwärmen mit Salpetersäure vom spec. Gew. 1,1 lässt er sich in Nadeln krystallisirt erhalten, die ganz der bromfreien Verbindung ähnlich sind; längere Zeit mit Salpetersäure gekocht, zersetzt er sich jedoch unter Abscheidung von Bromsilber.

Ferner liefert das Bromadenin in ganz analoger Weise wie das Adenin Niederschläge mit Quecksilberchlorid, Cadmiumchlorid, Kaliumwismuthjodid u. s. w., deren Zusammensetzung ich aber noch nicht ermittelt habe. —

Die Zurückführung der Bromadenins in Adenin gelingt sehr leicht und glatt durch Behandlung mit Natriumamalgam in der Kälte, oder durch mehrstündiges Kochen mit Zinkstaub. Ein Auftreten von Azulmsäure[1]) habe ich hierbei

[1]) Vergl. die Behandlung von Adenin mit sauren Reductionsmischungen: Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 12, S. 241.

nicht beobachten können, im Gegentheil ist die Regeneration des Adenins eine völlig quantitative.

0,1050 gr. Bromadenin, mit 5 gr. Natriumamalgam und 10 cbcm. Wasser bis zum Aufhören der Gasentwicklung stehen gelassen, lieferten 0,1700 gr. pikrinsaures Adenin [1]) und 0,0925 gr. AgBr.

	Berechnet f. d. Formel $C_5H_4BrN_5$:	Gefunden:
$C_5H_5N_5$	63,09	62,95
Br	37,38	37,48

Durch Eisenpulver wird das Bromadenin nicht angegriffen. —

Ich habe nun, in der Absicht, auf demselben Wege vorzugehen, den E. Fischer beim Caffeïn mit so grossen Erfolge einschlug [2]), auf das Bromadenin alkoholisches oder wässeriges Kali, sowie alkoholisches Ammoniak einwirken lassen, sah mich aber völlig getäuscht in der Erwartung, etwa ein Oxyadenin (oder Aethoxyadenin) resp. Amidoadenin zu erhalten. Das Bromadenin blieb bei dieser Behandlung unverändert; Gewicht und Bromgehalt des wiedergewonnenen Productes waren die gleichen wie beim angewandten Material, und ich habe daher die Bemühungen, in dieser Richtung weiter zu arbeiten, aufgegeben, besonders da sich durch eine andere Reaction des Bromadenins eine günstigere Perspective eröffnete.

Unterwirft man den Körper nämlich der sog. Xanthinprobe, indem man ihn mit starker Salpetersäure auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft und den erkalteten gelb bis röthlich gefärbten Rückstand mit Alkalien befeuchtet, so stellt sich sofort mit Natronlauge eine blauviolette, mit Ammoniak eine purpurrothe, mit Barytwasser eine rein violette Färbung ein. Diese Anzeichen einer vorgegangenen Spaltung

---

[1]) Die sorgfältige mikroskopische Prüfung dieses Niederschlages ergab völlige Reinheit desselben; selbst Spuren von pikrinsaurem Bromadenin würden (wie mich die Erfahrung gelehrt hat) leicht darin zu erkennen gewesen sein.

[2]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 14, S. 637, 1905; Bd. 15, S. 29, 453; Annalen der Chemie, Bd. 215, S. 253.

der Molekel des Adenins treten bekanntlich bei gleicher Behandlung reinen Adenins nicht auf[1]), und das Bromadenin ist daher als die erste Etappe auf dem Wege zur Ermittelung der Constitution dieses merkwürdigen Körpers zu betrachten.

Da jedoch die weitere Untersuchung, welche sich natürlich auf die Darstellung der Spaltungsproducte in Substanz zu concentriren hätte, voraussichtlich einen relativ grossen Aufwand von Material erfordern wird[2]), und ausserdem zum Unglück fast der ganze Rest meines Vorrathes an Adenin durch Behandlung mit nicht völlig reinem Brom (Spur Chlor?) in ein Product übergeführt worden ist, das bei der Analyse einen um 2 % zu hohen Stickstoff- und einen um 4 % zu niedrigen Bromgehalt zeigt und bisher auf keine Weise zu reinigen war — so bin ich zu meinem Bedauern gezwungen, an der Schwelle des interessantesten Theiles der Untersuchungen über das Adenin stehen zu bleiben.

In der Meinung, dass die Verunreinigung des letzterwähnten Präparates vielleicht von Chloradenin herrühren könnte (womit jedoch nicht alle an demselben gemachten Erfahrungen übereinstimmen), habe ich versucht, ein solches chlorirtes Product auf analogem Wege herzustellen, wie E. Fischer und L. Reese[3]) es mit Leichtigkeit aus dem Caffeïn erhielten. Doch stiess ich auch hier auf unerwartete und mit dem wenigen übrig gebliebenen Material nicht zu überwindende Schwierigkeiten. In der Kälte und selbst bei 100° wirkt übergeleitetes Chlor auf trockenes Adenin nicht ein, und ebenso wenig, wenn man es lange Zeit in eine Suspension von Adenin in siedendem Chloroform einleitet.

Endlich liess ich Phosphorpentachlorid mehrere Stunden bei 160—170° auf Adenin im zugeschmolzenen Rohre einwirken. Es trat nun eine Reaction unter theilweiser Verflüssigung des Rohrinhalts (Bildung von PCl_3?), Bräunung

---

[1]) Kossel, diese Zeitschrift, Bd. X, S. 255.

[2]) Bekanntlich ist auch die Darstellung von Alloxan und Parabansäure aus Harnsäure oder Xanthin mit schlechter Ausbeute verknüpft.

[3]) Annalen der Chemie, Bd. 215, S. 253; Bd. 221, S. 336.

des Adenins und Entwicklung von Chlorwasserstoff ein, beim Auflösen des Gemisches in Wasser stellte sich jedoch heraus, dass ein hellbrauner Körper ausfiel, der sich in verdünnten Säuren nicht löste. Diese Eigenschaft kann man, nach der Analogie schliessend, unmöglich dem Chloradenin zutrauen. An der weiteren Behandlung dieses Productes hinderte mich leider ebenfalls der Mangel an Material.

Das Hypoxanthin und die Harnsäure lassen sich durch trockenes Brom selbst im zugeschmolzenen Rohre bei 100° nicht bromiren oder zersetzen.

Azulmsäure dagegen (durch freiwillige Zersetzung von Blausäure erhalten) reagirt mit trockenem Brom bei gewöhnlicher Temperatur fast ebenso lebhaft wie Adenin. Es entsteht dabei ein schweres braunschwarzes Pulver, dessen Gewicht bei langem Liegen an der Luft beträchtlich abnimmt. Vielleicht ist also der Process ein analoger wie beim Adenin, da die Azulmsäure mit dem letzteren in gewissem Zusammenhange zu stehen scheint (siehe über Entstehung aus Adenin durch Reduction mit Zink und Salzsäure: Kossel, diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 248).

Anhang.

Adenindichromat. Wird Adeninlösung mit Chromsäurelösung im Ueberschusse versetzt, so scheiden sich nach einigen Stunden wohlausgebildete gelbrothe Krystalle aus, welche der Formel $(C_5H_5N_5)_2H_2Cr_2O_7$ entsprechen.

I. 0,3100 gr. gaben 0,4145 gr. $PbCrO_4$ und 0,4574 gr. pikr. Ad. = 0,1697 + 0,0020 = 0,1717 gr. Adenin.

II. 0,2012 gr. anderer Darstellung gaben 0,2712 gr. $PbCrO_4$ und 0,2957 gr. pikr. Ad. = 0,1097 + 0,0020 = 0,1117 gr. Adenin.

	Berechnet f. d. Formel $(C_5H_5N_5)_2H_2Cr_2O_7$:	Gefunden: I.	II.
2 $C_5H_5N_5$	55,28	55,40	55,52
2 Cr	21,38	21,57	21,87

Auch mit Ferridcyankaliumlösung scheidet Adenin braungrüne Nadeln ab, deren Zusammensetzung jedoch nicht ermittelt worden ist.

Ueber den Einfluss der Nahrung auf die Zusammensetzung der Blutasche.

Von

Dr. Karl Landsteiner.

(Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 2. August 1891.)

Um zu erfahren, ob eine Variation der Nahrung Veränderungen des Blutes in Bezug auf seine anorganischen Bestandtheile herbeiführe, machte Verdeil[1]) folgenden Versuch: Er fütterte einen Hund 18 Tage hindurch mit Fleisch, hierauf weitere 18 Tage mit Brod und Kartoffeln und entnahm nach jeder der beiden Fütterungsperioden eine Blutprobe, deren Asche er analysirte. Die Resultate der Analysen interpretirt Verdeil auf folgende Weise: «.... das Wichtigste indessen ist hiervon unabhängig, dass nämlich die Salze des Blutes je nach der Nahrung wechseln, und zwar mit grosser Schnelligkeit. Dieses geht deutlich durch Vergleich der Zusammensetzung der Blutasche desselben Hundes hervor, der zu verschiedenen Zeiten ein anderes Futter erhielt. ...... In der That, ob der Mensch Gemüse, Fleisch oder Brot geniesst, so wird sich immer Fibrin und Albumin bilden, aber durch eine mehrere Tage fortgesetzte Nahrung von Gemüse, Kartoffeln etc. werden in dem Blut die Salze vollständig wechseln, an der Stelle von phosphorsauren Alkalien, die vorher in grosser Menge vorhanden waren, wird man kohlensaure Salze finden.» Dieser Anschauung pflichtet Gorup-Besanez[2]) bei, indem er sagt: «.... dass die Blutasche eines und des-

---

[1]) F. Verdeil, Untersuch. der Blutasche versehiedener Thiere. Liebig's Ann., 1849, Bd. 69, S. 89.

[2]) Gorup-Besanez, Lehrbuch der physiologischen Chemie, Braunschweig 1874, S. 361.

selben Thieres in ihrer Zusammensetzung erhebliche Verschiedenheiten zeigen kann, dass aber letztere vorzugsweise durch die Art der Nahrung in constanter Weise beeinflusst werden.» Auch Bunge[1]) hält es auf Grund des Versuches von Verdeil[2]) und einer Analyse von Kemmerich[3]) für wahrscheinlich, dass «das mit der Nahrung aufgenommene Kali aus den Körperchen des Blutes das Natron verdrängen und dasselbe ersetzen kann, dem Plasma dagegen das Natron wohl zum Theil entziehen, nicht aber ersetzen kann.»

Diesen Annahmen zufolge müsste es als ein verfehltes Unternehmen erscheinen, die Asche eines Thieres oder seiner Organe zu untersuchen, ohne seine Ernährungsweise auf das Sorgfältigste zu berücksichtigen. Denn wenn auch nicht anzunehmen war, dass die Zusammensetzung der Asche bei allen Thierarten innerhalb der gleichen Grenzen mit der Nahrung zu schwanken im Stande sei, hätte man sich doch bei der Analyse der Blutasche von verschiedenen, in Bezug auf die Nahrung unbeeinflussten Individuen einer Species auf sehr bunte Resultate gefasst zu machen gehabt. In Wirklichkeit steht die Sache aber anders.

Jarisch[4]) untersuchte die Blutaschen von 4 Menschen, 4 Hunden, 2 Pferden und 2 Rindern, die vorher eine ganz beliebige Nahrung zu sich genommen hatten, und es stellte sich heraus, dass die analytischen Resultate bei der gleichen Thierart ohne Ausnahme unter einander gut übereinstimmten, hingegen bei den verschiedenen Species ganz bedeutende Differenzen aufwiesen. Demzufolge muss es als fraglich erscheinen, ob man im Stande ist, durch veränderte Nahrungszufuhr einem Thiere beispielsweise grosse Quantitäten Natrium zu entziehen und dafür Kalium einzuführen, oder es auf ähnlichem Wege eines grossen Theiles seiner phosphorsauren Salze

---

[1]) G. Bunge, Zur quantitativen Analyse des Blutes. Zeitschr. f. Biologie, Bd. XII, S. 191.

[2]) Verdeil, l. c.

[3]) E. Kemmerich, Untersuch. über die Wirk. der Fleischbrühe. Pflüger's Archiv, 1869, Bd. 2, S. 85.

[4]) Wiener medic. Jahrbücher, 1871, S. 435, 1877, S. 1.

zu berauben. Ich stellte daher einen Fütterungsversuch an, der zwischen beiden Möglichkeiten entscheiden sollte[1]). Falls er positiv ausfiel, waren auch Aufschlüsse über den Umfang des Salzaustausches und über die Mengenverhältnisse, in welchen sich die Salze gegenseitig vertreten können, zu erwarten. Ich nahm also eine Anzahl noch nicht erwachsener Kaninchen (30 Stück) und fütterte die Hälfte von ihnen mit Kuhmilch, die andere Hälfte mit Wiesenheu; dabei war dafür gesorgt (Boden und Wände des Stalles bestanden aus Ziegeln), dass die Thiere nicht etwa anderweitige Stoffe (Sand, Holz etc.) verzehren konnten. Die Fütterung wurde gleichmässig $3^1/_2$ Monate lang fortgesetzt. Von den Thieren beider Kategorien gingen anfänglich eine grössere Anzahl zu Grunde, die übrig bleibenden hingegen wurden sehr kräftig, hatten glänzendes Fell und waren anscheinend vollkommen gesund. Am Ende der Versuchszeit wurde den Thieren so viel Blut als möglich mittels einer in die a. carotis eingebundenen Canüle entzogen und in gewogenen Gefässen aufgefangen. Es schien mir das Blut für eine principielle Entscheidung ein günstigeres Untersuchungsobject zu sein, als die ganzen Thiere, da hier Verschiedenheiten in der Ausbildung der einzelnen Organe die Resultate zu compliciren vermochten.

Die Analyse der Asche wurde nach der von Jarisch[2]) beschriebenen Methode vorgenommen. Die Veraschung geschah in Platinschalen, die über dem Wiesnegg'schen Ofen sehr vorsichtig, nicht bis zur Rothgluth erhitzt wurden. Die zur Ermittlung der Phosphorsäure bestimmte Portion des löslichen Theiles der Asche wurde mehrere Stunden lang am Wasserbad mit Salzsäure behandelt, um vorhandene Pyrophosphate in orthophosphorsaure Salze überzuführen. Der unlösliche Theil der Asche wurde, nachdem er schon gewogen

[1]) G. Bunge stellt in «Der Kali-, Natron- und Chlorgehalt der Milch» etc., Zeitschr. f. Biologie, Bd. X, S. 324, ähnliche Versuche in Aussicht, war aber auf eine Anfrage meinerseits so freundlich, mir die Bearbeitung des Themas frei zu stellen.

[2]) L. c.

war, jedesmal noch mit heissem Wasser so lange behandelt, als eine erhebliche Gewichtsabnahme zu bemerken war. Der in Lösung gegangene Theil wurde dann mit der übrigen wässerigen Lösung vereinigt. Die für Chlor gefundenen Zahlen dürften, weil die Veraschung ohne Zusatz von Natriumcarbonat stattfand, nach Adlerskron[1]) und Bunge[2]) etwas zu klein sein. Allerdings habe ich bei mehreren, mit und ohne Zusatz von Alkalien und bei sehr gelinder Hitze ausgeführten, Veraschungen von Blut den Verlust an Chlor noch beträchtlich geringer gefunden als die eben citirten Autoren. Die Werthe für die Schwefelsäure sind nur der Controle halber aufgenommen. In 4 Analysen ergaben:

I. 76,05 Blut — 0,6679 lösl. Asche,
0,0926 unlösl. Asche,
0,7605 Gesammtasche.

Der lösl. Theil enthielt:		Der unlösl. Theil enthielt:	
K_2O	0,1217	Fe_2O_3	0,045
Na_2O	0,2446	CaO	0,012
Cl	0,2029	MgO	0,0047
P_2O_5	0,0760	P_2O_5	0,0201
SO_3	0,0835		0,0818
	0,7287		
— O[3])	0,0457		
	0,6830		

II. 67,68 Blut — 0,5589 lösl. Asche,
0,0989 unlösl. Asche,
0,6578 Gesammtasche.

Der lösl. Theil enthielt:		Der unlösl. Theil enthielt:	
K_2O	0,1190	Fe_2O_3	0,0436
Na_2O	0,1843	CaO	0,0075
Cl	0,1691	MgO	0,0021
P_2O_5	0,0332	P_2O_5	0,0323
SO_3	0,0824		0,0855
	0,5880		
— O	0,0352		
	0,5528		

[1]) Behaghel von Adlerskron, Ueber die Bestimmung des Chlors etc., Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 12, S. 390, 1873.

[2]) Bunge, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 10, S. 295, und Liebig's Ann., Bd. 172, S. 16, 1874.

[3]) Die dem Chlor äquivalente Sauerstoffmenge.

III. 75,2 Blut — 0,6509 lösl. Asche, 0,1069 unlösl. Asche, 0,7578 Gesammtasche.

Der lösl. Theil enthielt:		Der unlösl. Theil enthielt:	
K_2O	0,1415	Fe_2O_3	0,0553
Na_2O	0,2080	CaO	0,0048
Cl	0,1964	MgO	0,0043
P_2O_5	0,0599	P_2O_5	0,0306
SO_3	0,0905		0,0950
	0,6963		
$-O$	0,0443		
	0,6520		

IV. 45,72 Blut — 0,4527 lösl. Asche, 0,0618 unlösl. Asche, 0,5145 Gesammtasche.

Der lösl. Theil enthielt:		Der unlösl. Theil enthielt:	
K_2O	0,0909	Fe_3O_2	0,030
Na_2O	0,1416	CaO	0,007
Cl	0,1189	MgO	0,0038
P_2O_5	0,0484	P_2O_5	0,020
SO_3	0.0868		0,0608
	0,4866		
$-O$	0,0268		
	0,4598		

Ausgedrückt in Procenten des Blutes enthielten:

	Heufütterung.		Milchfütterung.	
	I.	II.	III.	IV.
K_2O	0,1600	0,1760	0,1882	0,1988
Na_2O	0,3216	0,2733	0,2766	0,3097
Fe_2O_3	0,0591	0,0644	0,0735	0,0656
CaO	0,0158	0,0111	0,0064	0,0153
MgO	0,0062	0,0031	0,0057	0,0083
Cl	0,2668	0,2499	0,2612	0,2601
P_2O_5	0,1264	0,0968	0,1203	0,1496
$\frac{Na_2O}{K_2O}$	2,0098	1,5488	1,4699	1,5577

An die Thiere III und IV wurde Kuhmilch verfüttert, welche mit Schlempe, Biertrābern und Grünfutter genährten Kühen entstammt. Nach Analysen von Bunge[1]) ist das Verhältniss der

[1]) Bunge, Der Kali-, Natron- und Chlorgehalt, l. c.

Alkalien in der Kuhmilch ein derartiges, dass auf 1 Aequivalent Na_2O 0,783—3,77 Aequivalente K_2O entfallen. Zahlen, welche sich der bezeichneten oberen Grenze nähern, kommen übrigens in einer Reihe Bunge'scher Analysen nur selten vor. In dem Heu, der Nahrung der Thiere III und IV, bestimmte ich das Verhältniss von $Na_2O : K_2O$ in einer Durchschnittsprobe wie 1 : 9,6 Aequival. Es nahmen also während der $3^1/_2$monatlichen Dauer des Versuches die beiden Gruppen von Thieren Kali und Natron in sehr differenten Mengen zu sich. Vergleicht man aber den $Na_2O : K_2O$-Quotienten im Blut mit dem gleichen Quotienten in der Nahrung des betreffenden Thieres, so lässt sich durchaus kein Parallelismus dieser beiden Verhältnisse constatiren. Auffallend ist bei dem Thier I mit kalireichem Futter der niedrige Kaligehalt des Blutes; das hängt wohl damit zusammen, dass dieses Blut wenig Eisen und dementsprechend wenig Hämoglobin enthält und dass es nicht unwahrscheinlich ist, dass die Menge der Alkalisalze in den Körperchen (die Körperchen enthalten vornehmlich Kali) mit den übrigen festen Bestandtheilen der rothen Blutzellen steigt und fällt. Am besten lassen sich die Analysen II und IV vergleichen. Aus ihnen kann man des nahe übereinstimmenden Eisengehaltes und des in beiden Fällen ähnlichen $Na_2O : K_2O$-Verhältnisses wegen wohl mit einiger Berechtigung schliessen, dass sich auch in den Blutkörperchen an dem Verhältniss der beiden Alkalien nichts geändert habe.

Weitere Analysen habe ich nicht unternommen, weil ich glaube, dass es bei einer vollständigen Ausarbeitung der Sache nützlicher wäre, neue Variationen der Versuchsbedingungen einzuführen. Was die Verdeil'sche Untersuchung betrifft, so hat Jarisch[1]) auf die vermuthliche Fehlerhaftigkeit seiner Hundeblutanalyse hingewiesen, und es wäre noch dazuzufügen, dass zur Zeit der Phosphorsäurebestimmungen von Verdeil die ätherlösliche Phosphorsäure und die phosphorsauren Salze mit einander bestimmt werden mussten, daher die Schlüsse, die sich auf die letzteren beziehen, nicht einwandsfrei sind. In der

---

[1]) L. c.

Untersuchung von Kemmerich[1]) aber findet sich überhaupt nur eine Alkalienbestimmung im Blutserum eines mit Kalisalzen gefütterten Hundes und keine Vergleichsanalysen von normalem Hundeblutserum. Ich glaube daher, dass man, auf Grund des vorliegenden Materials, keine Veranlassung hat, den oben angeführten Ansichten von Verdeil und Gorup-Besanez zuzustimmen, dass vielmehr bis jetzt anzunehmen ist, dass nicht die Zufuhr der mineralischen Stoffe über ihre Einverleibung in den Organismus entscheidet, sondern dass der Thierkörper die ihm gewöhnlich reichlich dargebotenen Salze, wenn dieser Ausdruck erlaubt ist, nach Bedarf in seinen Bestand aufnimmt oder ausscheidet, ebenso wie im Allgemeinen die übrigen ihm zugeführten Stoffe. Ob sich nicht zur Erklärung der merkwürdigen Verschiedenheiten der Blutasche bei den einzelnen Thierarten der Einfluss der Nahrung während sehr langer Zeitperioden heranziehen lässt, ist eine zweite Frage, die sich durch Vergleich von Aschenanalysen bei habituellen Fleisch- und Pflanzenfressern beantworten liesse. Doch scheinen dazu die vorliegenden Beobachtungen nicht zahlreich genug zu sein. Auffallend sind in dieser Hinsicht Thatsachen, wie z. B. der sehr geringe Kaligehalt der Blutkörperchen des Rindes (Bunge, Jarisch). Jedenfalls gibt es noch andere bedeutsame Ursachen für die Bevorzugung bald des einen, bald des anderen Salzes durch scheinbar analoge Zellen verschiedener Thierarten, die wohl einerseits mit Verschiedenheiten dieser Zellen an sich, andererseits mit Differenzen in Beschaffenheit und Function aller übrigen Organe eines Thieres zusammenhängen.

---

[1]) L. c.

Die Aetherschwefelsäuren im Harn und die Darmdesinfection.

Von

Dr. Albert Rovighi,
Privatdocenten der propädeutischen Klinik in Modena.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Herrn Professor E. Baumann in Freiburg i. Br.)
(Der Redaction zugegangen am 4. August 1891.)

Ohne Zweifel haben die Verdauungsvorgänge im Magen und Darm einen ganz besonderen Einfluss auf das Wohl und Wehe unseres Organismus. Im Verdauungskanal werden normaler Weise die verschiedenen Elemente gebildet, welche der Gewebernährung, der Wiederherstellung unserer Kräfte, dem beständigen Stoffwechsel dienen; erfahren aber die eingeführten Nährstoffe eine abnorme Zerlegung und Verarbeitung, so werden sie für den Organismus leicht eine Quelle der Autointoxication. Lauder Brunton betrachtet daher mit Recht die Indigestion als eine der wirksamsten Ursachen für nervöse Depressionszustände. Jene Verderbniss der übel verdauten oder unverdauten Nährmaterialien geht hauptsächlich im Darm vor sich; hier ergiesst sich einer von den Körpersäften, welche am schnellsten der Fäulniss unterliegen; hier gedeihen und vermehren sich zahlreiche Microben, welche die Eiweisskörper zu gesundheitsschädlichen Producten umwandeln.

Durch die Arbeiten von Jaffé, Baumann, Brieger u. A. ist festgestellt worden, dass die wichtigsten jener giftigen

Producte, welche der aromatischen Reihe angehören, im Urin zur Ausscheidung gelangen, das Indol, Phenol, Skatol, Parakresol, Brenzkatechin etc.; und Baumann verdanken wir den Nachweis, dass diese Körper an Schwefelsäure gebunden im Urin auftreten, in Form der gepaarten Aetherschwefelsäuren.

Aus der quantitativen Bestimmung der letzteren dürfte man einen Rückschluss auf den Umfang der Fäulnissvorgänge im Darm machen, wenn es festgestellt würde, dass jene Verbindungen nur bei der Zersetzung der Eiweisskörper im Darm entstehen und nicht etwa auch an anderen Stellen des Organismus sich bilden. Diese Frage hat eine grosse Tragweite für die Praxis und steht in engster Beziehung zum Thema dieser Abhandlung.

Zuerst glaubte man, jene Körper entständen bei der Verdauung aromatischer Nahrungsbestandtheile; nachdem sich diese Vermuthung als irrig erwiesen hatte, suchte man den Ort ihrer Bildung in den Geweben. Und in der That schienen der letzteren Annahme einige Beobachtungen günstig. So sah Salkowski[1]) bei hungernden Thieren noch grosse Mengen von Indol im Harn ausgeschieden werden und R. van den Velden[2]) beobachtete, dass bei einem Hunde, der 5 und 6 Tage hindurch ohne Nahrung geblieben war, die Aetherschwefelsäuren nur auf die Hälfte der früheren Menge vermindert wurden. Senator[3]) fand sogar in chronischen Inanitionszuständen häufig eine Vermehrung des Indicans im Urin. Daraus zog Salkowski den Schluss, dass die aromatischen Verbindungen auch im normalen Gewebe entstehen könnten[4]).

Indessen hatte Baumann Gelegenheit, eine die Entscheidung bringende Beobachtung bei einem Kranken zu

---

[1]) Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. IX, S. 408.

[2]) Ueber die Ausscheidung der gepaarten Schwefelsäuren im Harn. Virchow's Arch., Bd. 70, S. 343, 1872.

[3]) Centralbl. f. med. Wissensch., 1877.

[4]) Ueber die Entstehung der aromatischen Substanzen im Thierkörper. Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. X, 1886, S. 266.

machen, bei welchem mehrere Wochen hindurch eine Kothfistel in den oberen Partieen des Dünndarmes bestand[1]). Baumann sah, dass der Urin dieses Patienten während der ganzen Zeit, in welcher eine Stuhlentleerung auf natürlichem Wege nicht statthatte, eine beträchtliche Verminderung der Aetherschwefelsäuren aufwies und nur Spuren von Phenol und Indol und aromatischen Oxysäuren enthielt; dass umgekehrt, als die Fistel geschlossen und der Durchgang für die Nahrungsmittel durch die ganze Länge des Darmkanals wieder hergestellt war, die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Urin beträchtlich wuchs. In Uebereinstimmung hiermit beobachtete Ewald[2]) in einem analogen Falle von Dünndarmfistel das Verschwinden des Indols und Phenols im Harn, so lange die Fistel offen war, und ihr Wiedererscheinen, sobald die Verbindung zwischen dem oberen und unteren Darmtheile durch Verschluss der Fistel wieder hergestellt worden.

Auf Grund dieser Beobachtungen darf man annehmen, dass im Jejunum eine gewisse Menge aromatischer Verbindungen entsteht durch Zerlegung des Darmschleimes, der Nahrungsreste und anderer Substanzen, die im Darm eine grosse Menge Microorganismen finden. Baumann und Wassilieff[3]) fanden dementsprechend bei hungernden Thieren eine Abnahme, oder das völlige Verschwinden der Aetherschwefelsäuren im Harn, als sie mehrere Tage hindurch den Darm durch grosse Gaben von Calomel desinficirt hatten.

Es müssen hier die bemerkenswerthen Untersuchungen von Ortweiler[4]) erwähnt werden, aus denen hervorgeht, dass in fieberhaften Krankheiten, welche mit einer beträcht-

---

[1]) Die aromatischen Verbindungen im Harn und die Darmfäulniss. Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. X, 1886, S. 126.

[2]) Arch. f. patholog. Anat., Bd. 75, S. 409—419.

[3]) Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 6, S. 112.

[4]) Physiolog. und patholog. Bedeutung des Harnindicans. Mittheil. d. Würzburger Medic. Klin., Bd. 11, S. 153, 1888.

lichen Zunahme des Gewebszerfalls einhergehen, keine Zunahme des Indicans im Urin erfolgt. Fr. Müller fragt demnach gelegentlich seiner Untersuchungen über Inanition[1]) mit Recht: Wenn diese aromatischen Verbindungen nicht ausschliesslich Producte der Darmfäulniss sein sollen, warum findet man sie niemals in den Muskeln oder anderen Organen im gesunden Zustande? — Thatsächlich fielen Untersuchungen in diesem Sinne stets negativ aus, während dagegen die Excremente von Thieren, welche mehrere Tage gehungert hatten, stets deutliche Mengen von Indol enthielten. Ueberdies ist aus den wichtigen Studien Kühne's und Nencki's bekannt, dass Indol ausschliesslich ein Product der Bacterienwirkung auf Eiweisskörper ist; daraus folgt, wenn man bedenkt. dass in den Geweben des gesunden Körpers nach den entscheidenden Untersuchungen von Meissner, Zahn, Hauser Microorganismen nicht vorkommen, der nothwendige Schluss, dass die Bildung von aromatischen Körpern im Organismus ausserhalb des Darmrohres unter physiologischen Bedingungen nicht zugelassen werden darf.

Die Aerzte verfuhren also folgerichtig, wenn sie, auf Grund dieser experimentellen Erfahrungen, sich darauf beschränkten, zu erforschen, ob und unter welchen krankhaften Bedingungen im menschlichen Organismus die normale Ausscheidung der aromatischen Verbindungen durch den Harn einer Aenderung unterliege. So wies Salkowski[2]) nach, dass im Harn solcher, die an Ileus oder Peritonitis leiden, das Indol und Phenol bedeutend vermehrt ist. Und Brieger[3]) zeigte weiterhin, dass in chronischen Anämieen und Cachexieen viel Indoxyl und wenig Phenol im Urin auftritt, während bei Magenkrankheiten, zumal beim Magenkrebs, das Phenol vermehrt ist; und gleicherweise bei tuberculöser Peritonitis, bei acuter Peritonitis mit Stuhlverhaltung, in putriden Krank-

---

[1]) Indicanausscheidung durch den Harn bei Inanition. Ibidem S. 342—353.

[2]) Centralbl. f. medic. Wissensch., No. 14, S. 818, 1876.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 11, S. 221.

heiten, beim Lungenempyem, in septischen und puerperalen Fiebern, bei der Diphtherie, beim Erysipel u. s. w.; er schliesst daraus, dass das Phenol eine gesteigerte Zersetzung des Darminhaltes oder das Vorhandensein von putriden Herden im Organismus anzeigen kann.

Jaffé[1]) fand beim Studium über die pathologische Bedeutung der Indoxylverbindungen eine Vermehrung der letzteren in Erkrankungen des Dünndarmes, eine Abnahme bei der Dysenterie und bei pathologischen Zuständen des Dickdarmes, des Magens und Duodenums.

Senator[2]) berichtet über vermehrte Ausscheidung des Indols in chronischen Zehrkrankheiten, beim malignen Lymphom, im Typhus, bei der chronischen Peritonitis und beim Magenkrebs.

de Vreis[3]), welcher unter Edlefsen's Leitung arbeitete, beobachtete die Ausscheidung von beträchtlichen Mengen jener Verbindungen bei der tuberculösen Peritonitis, im Typhus, wenn diesen Durchfall begleitete, bei Verschluss des Dünndarms, von weit geringeren Mengen bei einfachen Darmkatarrhen und beim Dickdarmverschluss.

Henninga[4]) gibt an, dass grosse Indoxylmengen im Urin bei Kranken mit perniciöser Anämie, Typhus, Cholera erscheinen, ebenso bei der Bleikolik, in der Phthise, bei acutem und chronischem Magenkatarrh, bei chronischen Eiterungen, bei der progressiven Muskelatrophie und im Morbus Addisonii. Er führt die Bildung von Indolverbindungen zum Theil auf Zunahme der Eiweisszerlegung, zum Theil auf gesteigerte Absonderung des Bauchspeichels zurück.

Vor Kurzem hat Georg Hoppe-Seyler[5]) eine Reihe eingehender und genauer Untersuchungen in der Klinik zu

---

[1]) Arch. f. gesammte Physiologie, Bd. 30, S. 485, und Centralbl. f. d. medic. Wissensch., No. 31—32, 1872.

[2]) Centralbl. f. d. medic. Wissensch., No. 20—22, 1877.

[3]) Ueber Indican im Harn. Inaug.-Dissert. Kiel 1879.

[4]) Deutsch. Arch. f. klin. Medicin, Bd. 23, S. 271—287.

[5]) Ueber die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Urin bei Krankheiten. Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. XII, S. 1, 1888.

Kiel angestellt, um die diagnostische Bedeutung der Aetherschwefelsäureausscheidung im Urin zu ergründen. Er konnte den Schluss machen, dass im Allgemeinen die Ausscheidung jener Körper mit einer Steigerung aller Processe parallel geht, welche die Dünndarmverdauung verändern; er sah also beim Ileus, bei der Peritonitis, bei der Darmtuberculose eine erhebliche Zunahme der Aetherschwefelsäuren im Harn.

Im selben Jahre beobachteten Kast und Baas[1]) bei einem Dünndarmkrebskranken, der seit 23 Tagen am völligen Darmverschluss litt, eine gesteigerte Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren und das schnelle Absinken derselben nach der operativen Beseitigung des Dünndarmverschlusses.

Noch ist zu erwähnen, dass aus den ausgezeichneten Beobachtungen van den Velden's, Hirschler's, Fr. Müller's, Ortweiler's und Hoppe-Seyler's hervorgeht, dass die Art der Ernährung einen bedeutenden Einfluss auf die Ausscheidungsgrösse des Indols, sowie der Aetherschwefelsäuren übt, dergestalt, dass diese Körper im Urin vermindert werden, wenn man bei der Ernährung die Eiweisssubstanzen ausschaltet und eine grosse Menge Kohlehydrate verabreicht. Es geht also auch aus diesen Befunden hervor, dass die Körper der aromatischen Reihe im Urin unter physiologischen Bedingungen von einer Fäulniss wasserhaltiger Substanzen im Darm herrühren. — —

Weiterhin legte man sich die Frage vor, ob der Gebrauch von bestimmten Arzneimitteln einen Einfluss auf die Ausscheidungsgrösse der Aetherschwefelsäuren übe. Die Versuche von Baumann, Wassilieff u. A. mit Calomel beim Hungerthier wurden schon erwähnt. Einige Jahre später nahm Morax[2]) diese Untersuchungen auf und fand, dass, während grosse Gaben Calomel die Ausscheidung verringern, kleine

---

[1]) Zur diagnost. Verwerthung der Aetherschwefelsäureausscheidung im Harn. München. Med. Wochenschr., No. 4, 1888.

[2]) Bestimmung der Darmfäulniss durch Aetherschwefelsäuren im Harn. Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. X, S. 318, 1886.

Gaben, welche keinen Durchfall hervorrufen, dieselbe unverändert lassen.

Er erzielte eine vollständige Desinfection des Darmes mit grossen Jodoformdosen, aber keinerlei Einwirkung darauf mit Magisterium bismuthi; bei Anwendung des Ricinusöls beobachtete er verstärkte Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren.

Morax experimentirte am Hund und am gesunden Menschen. Ortweiler[1]) nahm gleiche Experimente mit Naphthalin in 6 Fällen von Darmerkrankung vor und fand, dass dieses Arzneimittel nur geringen Einfluss auf die Darmfäulniss übt. R. Steiff[2]) sah auf der Klinik des Professor Gerhard in Berlin bei Darreichung von 0,3 gr. Calomel dreimal am Tage keine Verminderung der Aetherschwefelsäuren im Harn; einen kaum merklichen Einfluss sah er von Campferdarreichung in gleicher Dosis.

M. Hagen[3]) studirte den Einfluss einiger Antiseptica auf die Darmgährung an der Ausscheidungsgrösse der Kynurensäure und sah, im Gegensatz zu Morax, keinen Einfluss vom Jodoform, dagegen eine erhebliche Verminderung jener Säure beim Gebrauch des Naphthalin, des Salol und Thymol.

Zuletzt beobachtete Kast[4]) bei seinen interessanten Versuchen im Laboratorium des Professor Baumann, dass die Neutralisirung des sauren Mageninhaltes mit grossen Gaben von kohlensauren Alkalien eine beträchtliche und dauernde Vermehrung der Aetherschwefelsäuren im Harn zur Folge hat. Es ergibt sich hieraus der Schluss, dass der Salzsäure des Magensaftes die Eigenschaft zukommt, das Wachsthum der Bacterien im Darm einzuschränken, und somit bestätigt sich

---

[1]) L. c.

[2]) Ueber die Beeinflussung der Darmfäulniss durch Arzneimittel. Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. 16, S. 311—324.

[3]) Maly's Jahresbericht f. Thierchemie, S. 273, 1890.

[4]) Ueber die quantitative Bemessung der antiseptischen Leistung des Magensaftes. Festschrift zur Eröffnung des neuen allgem. Krankenhauses zu Hamburg, 1889.

auch der Darmfäulniss gegenüber die schon seit länger als einem Jahrhundert durch Spalanzani erwiesene fäulnisswidrige Kraft des Magensaftes.

M. Wasbutzki untersuchte den Einfluss der Magengährung auf die Darmfäulniss[1]) und fand, dass die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren wächst, wenn in Folge einer gastrischen Störung die Salzsäureabsonderung im Magen verringert ist, und dass sie umgekehrt eine Abnahme in Fällen von Hyperacidität des Mageninhaltes durch abnorme Bildung von Milchsäure und Buttersäure erfahren kann; daraus geht hervor, dass auch diese Säuren der Darmfäulniss entgegenwirken.

Die Beobachtung, dass bei Nierenerkrankungen eine Verringerung der Magensaftabsonderung eintreten kann, gab Biernacki[2]) die Anregung, zu untersuchen, ob die Darmfäulniss bei Nephritis einer Veränderung unterliegt, und er fand thatsächlich in derartigen Fällen eine Vermehrung der Aetherschwefelsäureausscheidung durch den Harn; auch bei catarrhalischem Icterus mit vollständigem Verschluss der Gallenwege fand er grosse Mengen der gepaarten Schwefelsäure im Harn, was auf eine antiputride Wirkung der Galle im Darmkanal hinweist, im Gegensatz zu den Beobachtungen Röhmann's[3]) am Gallenfistelhunde und Fr. Müller's[4]) am Icteruskranken.

Höchst wahrscheinlich entstehen beim Process der Darmfäulniss neben den aromatischen Verbindungen andere noch unbekannte Verbindungen, die vielleicht noch giftiger auf den Organismus wirken als jene; immerhin darf zugestanden

---

[1]) Ueber den Einfluss von Magengährung auf die Fäulnissvorgänge im Darmkanal. Archiv f. experim. Pathologie u. Pharmakol., Bd. 26, S. 133—138.

[2]) Ueber die Ausscheid. der Aetherschwefelsäuren bei Nierenentzündung und Icterus etc. Centralbl. f. med. Wissensch., No. 49 u. 50, 1890.

[3]) Pflüger's Archiv, Bd. 29, S. 525.

[4]) Untersuchungen über den Icterus. Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. XII, S. 119.

werden, dass nach alledem, was wir bisher mitgetheilt haben, die quantitative Bestimmung der erstgenannten Körper, die aus der Einwirkung von Bacterien auf Eiweisssubstanzen im Darmkanal hervorgehen, ein werthvoller Anhaltspunkt für die Bemessung der Grösse und Ausdehnung der Darmfäulniss sein wird.

Da sich aber, wie bereits erwähnt, die Körper aus der aromatischen Reihe in Form der Aetherschwefelsäuren mit Schwefelsäure vereinigt im Urin finden, so wird bei derartigen quantitativen Bestimmungen das Verfahren ausreichen, die ausgeschiedene Schwefelsäure insgesammt zu bestimmen und daraus durch Abzug der Schwefelsäure der normalen oder präformirten Sulfate die Menge der gepaarten Säure zu berechnen.

Man pflegt dabei die präformirten Sulfate mit dem Buchstaben A, die anderen mit dem Buchstaben B zu bezeichnen.

Nach Reinhard van den Velden beträgt in der Norm die täglich ausgeschiedene Menge der Aetherschwefelsäure ungefähr 0,278 gr. und kann zwischen den Grenzen von 0,094 und 0,617 gr. schwanken. Der Quotient A : B beträgt im Mittel 10,5. Nach den Analysen von G. Hoppe-Seyler ist das Verhältniss von A : B beim Gesunden 11,6 und die Tagesmenge der Aetherschwefelsäuren beträgt 0,22 gr.

Auf Grund dieser Daten unternahm ich einige directe Versuche zur Ergründung der Mittel, welche die Thätigkeit der Darmbacterien aufheben oder einzuschränken im Stande sind, und berechnete die Wirkung jener Mittel aus der quantitativen Bestimmung der Aetherschwefelsäuren im Harn.

Man sieht leicht ein, wie wichtig es für die Praxis ist, über die Mittel zu verfügen, mit denen eine sichere Desinfection des Darmkanals erzielt werden kann; in vielen Krankheitsfällen steigt ja die Entwicklung der Microorganismen im Darm in's Ungeheure und kann zur Bildung von höchst gefährlichen Substanzen führen.

Aber trotz der zahlreichen Publicationen über diesen wichtigen Gegenstand ist jener Versuch noch von vielen Schwierigkeiten umlagert.

Man muss ja, will man derartige Mittel per os einführen, Substanzen wählen, welche, ohne für den Organismus giftig und ohne für die normale Verdauung hinderlich zu sein, ihre Wirkung bis auf die untersten Theile des Darmkanals ausüben, und umgekehrt, wenn man den Weg per rectum einschlägt, muss man bacterientödtende Substanzen zur Verfügung haben, welche ohne Schaden für den Körper in so grosser Menge eingeführt werden können, dass man zu höher gelegenen Darmabschnitten mit ihnen gelangt.

Versuche in dieser Richtung führte ich am Hunde, an einigen Kranken und an mir selbst aus. Sie sollen nur ein bescheidener Beitrag zur Lösung jener wichtigen Frage sein. — Bei der Ausführung bediente ich mich der Methode Baumann's in der Modification von Salkowski, welche die höchst erreichbare Genauigkeit gewährleistet. Ich unterwarf stets die Gesammtmenge des Urins von 24 Stunden der Untersuchung. Neben der quantitativen Bestimmung der präformirten und gepaarten Schwefelsäure nahm ich Rücksicht auf die Indoxylreaction, da das Indol eines der wichtigsten Producte bei der Darmfäulniss ist.

Schwankungen in der Ausscheidung der Aetherschwefelsäure je nach den Tagesstunden; Einfluss des Alters und der Ernährung darauf.

Eine Reihe meiner Untersuchungen bezieht sich auf die Frage, ob im normalen Zustande die Ausscheidung der Aetherschwefelsäure zu verschiedenen Tagesstunden einer Schwankung unterliegt. Aehnliche Untersuchungen sind meines Wissens mit genügender Exactheit nicht angestellt worden. Nur R. van den Velden merkt einige Unterschiede in der ausgeschiedenen Menge der Aetherschwefelsäuren am Morgen und am Abend an. Meine Beobachtungen darüber sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Tafel I.

Datum.	Harn gelassen von Stunde:	Menge.	Spec. Gew.	Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure *in toto* als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Bemerkungen.
				A.	B.	A.	B.		
21. I.	11 Nm. - 7 Vm.	400	1022	0,297	0,025	0,998	0,084	14,8	
24. »	11 Nm. - 7 Vm.	420	1020	0,287	0,026	1,050	0,091	11,0	
25. »	3 Nm.	350	1007	0,055	0,012	0,161	0,035	4,6	Der Harn wurde ungefähr 1½ Stunde nach der Mahlzeit gelassen.
27. »	11 Nm. - 7 Vm.	400	1024	0,350	0,032	1,176	0,107	10,9	
27. »	3 Nm.	370	1012	0,080	0,014	0,248	0,043	5,7	Wie oben.
3. II.	11 Nm. - 7 Vm.	350	1025	0,317	0,025	0,932	0,074	12,6	
3. »	3 Nm.	450	1003	0,017	0,004	0,064	0,015	4,2	1½ Stunde nach dem Mittagessen, wobei eine grosse Menge Wasser getrunken wurde.
12. »	11 Nm. - 7 Vm.	350	1021	0;327	0,031	0,961	0,091	10,5	
12. »	3 Nm.	400	1005	0,045	0,008	0,151	0,026	5,6	Wie oben.
16. »	7 Vm.	210	1026	0,343	0,036	0,483	0,063	10,9	
16. »	3½ Nm.	350	1005	0,655	0,008	0,191	0,023	8,1	2 Stunden nach dem Mittagessen.
17 »	5 Nm.	110	1029	0,349	0,024	0,322	0,022	14,8	4½ Stunden nach d. Mittagessen, ohne Zufuhr von Flüssigkeit während des Mahles.
28. »	7 Vm. - 7 Nm.	830	1012	0,115	0,012	0,802	0,084	9,5	Tagurin.
	7 Nm. - 7 Vm.	900	1015	0,180	0,015	1,361	0,113	12,0	Nachturin.

Aus der vorstehenden Uebersicht über meine Beobachtungen erhellt, dass die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren relativ grösser während der Tagesstunden als zur Nachtzeit ist. So sieht man, dass in dem kurz nach dem Mittagessen gelassenen Urin, mit niedrigem specifischen Gewicht, das Verhältniss von A : B auf 5,6 und sogar auf 4,2 sinken kann. Entzieht man aber dem Versuchsobject jegliches Getränk und untersucht den Harn, der 4—5 Stunden nach der Mahlzeit entleert wird und ein hohes specifisches Gewicht hat, so findet man jenes Verhältniss bis auf 18,4 erhöht. Es

könnte danach scheinen, dass über Tag die Einfuhr von Getränken Schuld an der Vermehrung der aromatischen Schwefelsäureverbindungen gegenüber den präformirten Sulfaten trägt.

Auf alle Fälle geht daraus hervor, dass, wenn man vergleichende Untersuchungen über die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren machen will, die Berücksichtigung der ganzen Tagesmenge des Urins und die Berechnung der ausgeschiedenen Substanzen auf 24 Stunden nothwendig ist.

Ueber Ausscheidungsvarianten in verschiedenen Altersstufen liegen gegenwärtig nur wenige Beobachtungen vor. Bei Kindern fand Haldane[1]) das Verhältniss von A : B = 18,8. Ich selbst habe bei Kindern von 4—5 Jahren 6 Analysen gemacht und einen Quotienten von 15,1 bis 14,1 und die Tagesmenge der Aetherschwefelsäuren zu 0,052 bis 0,08 gr. gefunden.

Bezüglich des Einflusses der Ernährungsweise fand ich in Uebereinstimmung mit Röhmann[2]) und Anderen, dass ein Hund, welcher mit Brod und Speiseresten (Hundezwieback, Hundekuchen) gefüttert wird, eine Vermehrung der Aetherschwefelsäuren und eine Verminderung der einfachen Sulfate in der Art zeigt, dass das Verhältniss von A : B sich auf 3,4 bis 1,5 stellt; dass hingegen bei einem Hunde, der mit rohem Pferdefleisch ernährt wird, nach einigen Tagen sich das Verhältniss auf 10,4 und 12,6 erheben kann.

Einfluss der Terpene und der Campfergruppe.

Von meinen Versuchen, die Fäulnissprocesse im Darmkanal zu vermindern, erwähne ich zunächst diejenigen, welche ich mit Hülfe einiger aromatischer Körper anstellte.

Da diese Körper im Allgemeinen wenig löslich sind, so können sie leicht in den Darmtractus gelangen, ohne im Magen absorbirt zu werden. Es ist bekannt, dass man ihnen

---

[1]) Maly's Jahresbericht, 1889, S. 422.

[2]) Pflüger's Archiv, Bd. 29, S. 525, 1882.

von Alters her eine antiputride und antifermentative Kraft zuschreibt; aber, so viel ich sehe, fehlt es noch an ausgedehnten Untersuchungen über ihre microbicide Wirkung gegenüber den bekannten pathogenen Keimen. Ich erinnere nur daran, dass 1881 Koch in seiner klassischen Arbeit über Desinficientien[1]) mittheilt, dass Terpentinöl und Pfefferminzöl den Milzbrandbacillus tödtet, und dass Macdonald[2]) fand, dass das Menthol in einprocentiger Lösung ein treffliches Antisepticum ist, welches auf Microorganismen wie eine Sublimatlösung von 1 : 500 wirkt.

In meinen Versuchen prüfte ich den Einfluss des Terpinhydrats, des Terpentinöls, des Eucalyptol, des Campfers und des Menthol sowohl am Hunde, wie an mir selbst und an einigen Kranken; bei letzteren wendete ich den Campfer und das Terpentinöl auch im Enteroclysma an.

Tafel II.

Versuche mit Terpentinöl an mir selbst.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
5. III.	1500	1016	0,193	0,017	2,431	0,214	11,3	Spuren	Ich nehme 4 *gr. Terpentinöl* zu mehreren Malen.
6. »	1800	1016	0,147	0,011	2,223	0,160	13,3	0	Noch einmal 4 *gr. Terpentinöl.*
7. »	1700	1014	0,134	0,012	1,801	0,161	12,2	0	
8. »	—	—	—	—	—	—	—	—	Am Abend nehme ich 3 *gr. Terpentinöl* im Zeitraum einer Stunde.
9.III. 7Vm.	400	1023	0,371	0,019	—	—	19,5	0	
10. III.	1250	1020	0,215	0,020	2,275	0,210	10,7	Spuren	

[1]) Mittheil. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. I, 1881.

[2]) Edinbourg Journal, 1880.

Tafel III.

Versuche mit Terpinhydrat und Terpertinöl an einem starken Hund von 11,500 Kilo Körpergewicht.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		A/B	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
9. II.	650	1023	0,263	0,026	1,435	0,142	10,1	Stark	Der Hund erhält als Nahrung 500 gr. Pferdefleisch täglich.
10. »	450	1035	0,271	0,026	0,984	0,094	10,4	Deutlich	
10. »	450	1032	0,279	0,032	0,955	0,121	9,0	Idem	Irrthümlich gibt man dem Thiere die doppelte Fleischmenge.
12. »	750	1026	0,215	0,016	1,354	0,133	13,4	Schwach	*6 gr. Terpinhydrat* vor der Mahlzeit.
13. »	300	1045	0,407	0,035	0,926	0,089	11,6	Deutlich	*6 gr. Terpinhydrat.*
15. »	400	1030	0,280	0,023	0,941	0,070	12,1	Wenig stark	*6 gr. Terpentinöl.*
16. »	250	1033	0,365	0,035	0,724	0,072	10,3	Deutlich	*6 gr. Terpentinöl.* Geringer Durchfall.
17. »	350	1030	0,272	0,019	0,799	0,055	14,3	Spuren	*6 gr. Terpentinöl.* Starker Veilchengeruch des Harnes.
19. »	—	—	—	—	—	—	—	0	Der Urin geht zum Theil verloren. — Noch *6 gr. Terpentinöl.*
20. »	380	1038	0,375	0,014	1,188	0,045	26,8	Schwach	
21. »	270	1038	0,382	0,020	0,866	0,044	19,1	Idem	
23. »	330	1042	0,403	0,030	1,117	0,083	13,4	Deutlich	
24. »	280	1046	0,692	0,050	1,582	0,117	13,3	Idem	

Tafel IV.

Versuche mit Campfer an mir selbst.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		A/B	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
8. V.	1100	1021	0,268	0,024	2,476	0,221	11,2	Deutlich	Im Zeitraum von 36 Stunden nehme ich in 8 Theilen *5 gr. Campfer.* Nach dem letzten Gramme, welches ich nüchtern nahm, stellte sich ein Gefühl der Schwere im Kopf und ein leichtes Unwohlsein ein.
10. »	1500	1015	0,182	0,014	2,188	0,176	13,0	Schwach	
11. »	1000	1021	0,275	0,021	2,210	0,176	13,1	Idem	

Tafel V.
Versuche mit Campfer und mit Menthol am Hunde.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
24. II.	280	1046	0,692	0,050	1,582	0,117	13,8	Deutlich	Der Hund erhält als Nahrung 500 gr. Pferdefleisch. — Um 3 Uhr Nachm. *5 gr. Campfer.*
25. »	320	1038	0,240	0,042	0,645	0,112	5,7	Stark	*5 gr. Campfer.*
26. »	210	1046	0,366	0,032	0,645	0,055	11,4	Wenig stark	*5 gr. Campfer.*
27. »	280	1047	0,441	0,027	1,037	0,063	17,0	Schwach	*6 gr. Campfer.*
28. »	270	1050	0,471	0,035	1,068	0,079	13,5	Deutlich	Seit 4 Tagen besteht Verstopfung.
2 III.	350	1050	0,500	0,036	1,470	0,105	13,9	Idem	
3. »	530	1040	0,279	0,026	0,042	0,115	9,7	Stark	Normaler Stuhlgang.
4. »	230	1045	0,404	0.026	0,916	0,082	11,2	Idem	*10 gr. Campfer* nach der Mahlzeit.
5. »	360	1046	0,546	0,019	1,651	0,067	28,4	Schwach	Idem.
6. »	310	1047	0,346	0,026	0,901	0,065	13,3	Idem	Idem.
7. »	300	1050	0,561	0,007	1,413	0,017	80,1	Spuren	
9. »	200	1050	0,369	0,012	0,519	0,019	30,7	Idem	Der Hund befindet sich wohl, aber er hat starken Durst.
10. »	900	1030	0,162	0,025	1,225	0.189	6,4	Stark	
11. »	750	1029	0,126	0,014	0,794	0,088	9,0	Idem	Um 5 Uhr Nachm. *2 gr. Menthol.*
12. »	700	1030	0,152	0,011	0,893	0,064	13,8	Deutlich	Um 5 Uhr Nachm. *2 gr. Menthol.*
13. »	950	1029	0,137	0,010	1,105	0,079	13,7	Idem	Um 5 Uhr Nachm. *4 gr. Menthol.*
14. »	400	1044	0,368	0,039	1,236	0,132	9,4	Idem	Es werden wiederum *10 gr. Campfer* gegeben.
15. »	270	1046	0,325	0,018	1,260	0,040	18,0	Spuren	
16. »	320	1048	0,390	0,022	1,048	0,059	17,7	Idem	
17. »	300	1040	0,350	0,015	0,876	0,037	23,3	Idem	
18. »	360	1050	0,284	0,023	0,855	0,069	12,3	Schwach	

Tafel VI.

R. D., 21 Jahre alt, leidet seit 6 Jahren an chronischer Enteroperitonitis. Versuche mit Eucalyptol, Campfer und Terpentinöl per os und per Clysma.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
8. IV.	1200	1011	0,113	0,039	1,139	0,383	2,9	Stark	Patient erhält *20 gr. Eucalyptustinctur*.
9. »	1100	1016	0,197	0.049	1,820	0,452	4,0	Deutlich	Noch *20 gr. Eucalyptustinctur*.
10. »	550	1020	0,261	0,073	1,205	0,337	3,5	Stark	Erhält *1,5 gr. Eucalyptol*.
11. »	500	1024	0,290	0,096	1,218	0,403	3,0	Idem	Idem.
12. »	750	1018	0,200	0,076	1,260	0,475	2,6	Idem	Idem. Der Kranke fühlt sich besser.
13. »	1000	1017	0,188	0,060	1,579	0,504	3,1	Idem	Klystiere m. *15 gr. Terpentinöl* und *1,5 gr. Campfer* auf 1 Liter Wasser.
14. »	1800	1010	0,094	0,031	1,407	0,468	3,0	Deutlich	2 Klystiere mit *20 gr. Terpentinöl* u. *2 gr. Campfer* auf 2 Liter Wasser.
15. »	1200	1014	0,185	0,037	1,864	0,372	5,0	Schwach	
16. »	1500	1011	0,142	0,040	1,938	0,504	3,5	Idem	Dem Kranken geht es besser.
17. »	1000	1016	0,181	0,060	1,512	0,504	3,0	Deutlich	Keine Verordnung.
18. »	750	1019	0,204	0,076	1.263	0,475	2,7	Stark	Er nimmt *8 gr. Campfer* in 24 Stunden.
20. »	1200	1014	0,163	0,050	1,643	0,504	3,2	Idem	Noch *8 gr. Campfer* w. o.
21. »	1700	1012	0,125	0,036	1,750	0.513	3,2	Wenig stark	
22. »	650	1020	0,257	0,088	1,403	0,501	2,9	Deutlich	

Tafel VII.

G. M., Mann von 62 Jahren mit Magenkrebs und Leberkrebs. Versuche mit Eucalyptol uud Campfer per Clysma.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
2. IV.	400	1026	0,354	0,068	1,189	0,228	5,2	Stark	2 Klystiere von Eucalyptuswasser mit 2 gr. Campfer in Oel gelöst.
3. »	380	1027	0,346	0,066	1,008	0,211	4,8	Idem	Idem.
4. »	350	1030	0,298	0,053	1,841	0,156	5,6	Deutlich	Idem. Geringes Uebelsein nach d. letzten Klystier.
5. »	600	1020	0,266	0,030	1,350	0,151	8,9	Schwach	
6. »	450	1020	0,223	0,032	1,842	0,121	7.0	Deutlich	
7. »	400	1027	0,278	0,041	1,934	0,137	6.8	Stark	

Eine Prüfung der vorstehenden Versuche ergibt:

1. Beim Hunde verursachen hohe Gaben von Terpentinöl, Campfer und Menthol eine beträchtliche Verminderung der Fäulnissprocesse im Darmkanal: und zwar setzt die Darreichung von 6 gr. Terpentinöl pro die die Menge der im Urin ausgeschiedenen Aetherschwefelsäuren um mehr als die Hälfte herab, so dass sich ihr Verhältniss zu der präformirten Schwefelsäure auf 26,8 stellt; — 10 gr. Campfer pro die bewirken eine Verminderung der Aetherschwefelsäuren um $^7/_{10}$; der Quotient A : B steigt auf 80,1; — 2 bis 4 gr. Menthol pro die haben eine Verminderung der Aetherschwefelsäuren um annähernd die Hälfte zur Folge, also eine weniger beträchtliche als die vorher genannten Substanzen.

2. Die desinficirende Eigenschaft des Campfers und Terpentinöls überdauert beim Hunde etwa 3 Tage die letzte Darreichung jener Substanzen.

3. Beim gesunden Menschen hat die einmalige Darreichung von 4 gr. Terpentinöl oder der an drei auf einander folgenden Tagen wiederholte Gebrauch von 3 gr. Campfer eine Verminderung der Aetherschwefelsäureausscheidung um etwa $^1/_4$ der Norm zur Folge.

4. Bei einem Kranken mit schwerer chronischer Enteroperitonitis zeigten weder Campfer noch Eucalyptol, per os gereicht, einen ersichtlichen Einfluss auf die intensive Darmfäulniss, während ein geringer Einfluss von der Anwendung eines Darmeinlaufes mit 20 gr. Terpentinöl und 2 gr. Campfer sich beobachten liess.

5. Bei einem Kranken mit Magenkrebs und Leberkrebs setzte ein Klystier von Eucalyptuswasser mit 2 gr. Campfer die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren um $^1/_3$ herab.

Leider hatte ich keine Gelegenheit, die Versuche über die Wirksamkeit der Terpene und Campferarten bei ihrer Anwendung per os und per anum an mehreren Kranken, bei welchen beträchtliche Darmfäulniss und Darmgährung auf dem Boden tiefer Functionsstörungen der Eingeweide gedeihen,

zu vervielfältigen, indessen ermuthigen die wenigen Beobachtungen zu weiteren gelegentlichen Untersuchungen.

Ich erwähnte schon die Versuche, welche R. Steiff in der Klinik des Professor Gerhardt zu Berlin anstellte; er sah leichte antiseptische Wirkungen im Darmkanal beim inneren Gebrauch des Campfers in Gaben von 0,3 gr., welche 3mal täglich gereicht wurden. Kürzlich hat Fürbringer klinische und experimentelle Untersuchungen über die Wirkung der Campfersäure angestellt und beobachtet, dass ihre Darreichung durch den Mund eine Verminderung der lebenden Schizomyceten in den Stuhlgängen zur Folge hat. Aus den Arbeiten von Wiedmann, Schmiedeberg, Binz, Kobert und Pellacani ist bekannt, dass der Campfer und verwandte Substanzen die Erregbarkeit des Gehirns und der Medulla oblongata zu steigern, die Temperatur fiebernder Thiere herabzusetzen (Hoffmann) im Stande sind, und aus meinen Beobachtungen geht hervor, dass dem Campfer eine ausgesprochene diuretische Wirksamkeit zukommt.

In Folge dieser besonderen Eigenschaften dürfte der Campfer wohlthätige Wirkungen in vielen Infectionskrankheiten des Verdauungskanals üben; aber es ist hervorzuheben, dass, um ersichtliche Wirkungen auf die Fäulnissvorgänge im Darm hervorzurufen, weit grössere Gaben davon erforderlich wären, als der Mensch für gewöhnlich gut verträgt, und dass bei derartigen Versuchen zum Wenigsten die Darreichung bei leerem Magen vermieden werden müsste, da der Campfer von diesem leicht resorbirt werden und allgemeine Störungen hervorrufen kann.

Wir sehen, dass das Terpentinöl die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Urin vermindert; man könnte es demnach bei Darmkrankheiten durch den Magen oder in Gestalt eines Klystiers mit Campferzusatz durch den Mastdarm anwenden. Hierbei möchte ich an die von englischen Aerzten (Wood u. A.) gern geübte Darreichung des Terpentinöls im Typhus und bei septikämischen Puerperalfiebern erinnern und an den Gebrauch, der in vielen Frauenkliniken, zumal auch im Freiburger Klinikum, mit

Vortheil geübt wird, nach Laparotomieen Terpentinklystiere zu geben, um den Darm zu reinigen und Meteorismus zu verhüten.

Einfluss der Tanninklystiere.

In Italien und im Ausland sind die wichtigen Studien des berühmten Klinikers in Neapel bekannt, welche den wohlthätigen Einfluss von Tanninklystieren auf den Verlauf der Cholera darthun und vor Allem ihre Wirksamkeit in der antiseptischen Beeinflussung des Darmes erweisen. Es lag mir deshalb nahe, in einem sehr schweren Falle von chronischer Enteroperitonitis, der sich durch eine bedeutende Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Harn auszeichnete, die Wirkung derartiger Tanninklystiere zu erproben.

Tafel VIII.

R. D., Jüngling von 21 Jahren, leidet seit 6 Jahren an chronischer Enteroperitonitis (vgl. Tafel VI). Versuch mit Tanninklystieren.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
1. IV.	800	1022	0,232	0,087	1,559	0,584	2,6	Stark	Es werden 2 Klystiere mit *10 gr. Tannin* auf 1 Liter Wasser 38° gegeben.
2. »	1500	1015	0,140	0,052	1,664	0,675	2,6	Idem	Dieselbe Verordnung.
3. »	1100	1018	0,174	0,062	1,838	0,572	2,8	Deutlich	2 Klystiere mit *20 gr. Tannin.*
4. »	1850	1010	0,136	0,029	1,624	0,350	4,6	Wenig deutl.	Viel Gallussäure im Harn.
5. »	2300	1009	0,096	0,020	1,854	0,386	4,8	Idem	
6. »	1900	1010	0,110	0,030	1,739	0,497	3,7	Deutlich	
7. »	2200	1007	0.065	0,030	1,205	0,554	2,1	Schwach	
8. »	1200	1011	0,113	0,039	1,139	0,383	2,9	Deutlich	

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass 1- oder 2procentige Lösungen von Tannin als Enteroclysma einen bedeu-

tenden Einfluss auf die Darmfäulniss nicht haben. Backhaus[1]), der eine lange Reihe von Versuchen mit Tannineinläufen bei Typhuskranken auf der Greifswalder Klinik unter Professor Mosler anstellte, berichtet, dass er davon keinen Einfluss auf die Fieberkurve, noch auf den Krankheitsverlauf sah, dass sie sich aber gegen die Diarrhöen wirksam erwiesen und zweckmässig zur Reinigung des Darmes.

Einfluss der Borsäureklystiere.

Der Borsäure schreibt man eine gute antiputride Wirksamkeit bei geringer Giftwirkung auf den menschlichen Organismus zu; daher machte ich mit ihr einen Versuch bei zwei Frauen, die an einer Enteroperitonitis litten; und zwar wendete ich eine 3procentige Lösung zum Klystier an.

Tafel IX.

Frau von 24 Jahren; seit 3 Monaten an einer Enteroperitonitis krank. Versuche mit Borsäureklystieren.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
9. IV.	1500	1012	0,135	0,045	1,695	0,567	3,0	Stark	Abends wird ein Klystier von 1 Liter 3procentiger Borsäurelösung gemacht. Die Kranke behält die eingegossene Flüssigkeit lange bei sich. Es stellt sich Erbrechen und schweres Unwohlsein für 2 Tage ein.
10. »	1400	1014	0,168	0,013	2,175	0,168	13,3	Schwach	
11. »	1100	1016	0,145	0,016	1,339	0,147	9,0	Idem	
12. »	800	1020	0,221	0,022	1,285	0,128	10,0	Deutlich	
14. »	1000	1016	0,162	0,028	1,368	0,235	5,8	Idem	

[1]) Ueber die Behandlung des Typhus abdom. mit Darminfusion von Tanninlösung. Deutsch. med. Wochenschr., 1889, S. 583.

Tafel X.

Frau von 32 Jahren; seit 2 Monaten an einer Entero-peritonitis krank. Versuche mit Borsäureklystieren.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
18. IV.	800	1015	0,163	0,022	1,095	0,147	7,4	Stark	Im Verlauf des Tages werden 2 Enteroclysma von 1½ Liter 3procentiger Borsäurelösung gemacht.
19. »	800	1020	0,187	0,009	1,256	0,060	20,6	0	In der Nacht litt die Kranke an Erbrechen, mit heftigen Leibschmerzen, an Schwindel und grosser Uebelkeit, die 3 Tage lang währt.
20. »	1400	1016	0,204	0,011	2,403	0,129	18,5	Spuren	
25. »	550	1030	0,563	0,067	2,601	0,309	8,4	Stark	Die Kranke befindet sich besser.

Aus den Versuchen ist ersichtlich, dass Eingiessungen von gesättigter Borsäurelösung in den Mastdarm die Fäulnissvorgänge im Darm beträchtlich einzuschränken vermögen. Indessen wird eine Resorption der Borsäure von Erbrechen, Bauchschmerzen und anderen schweren Krankheitssymptomen angezeigt, welche den Gebrauch derselben, auch auf dem Wege des Mastdarms, widerrathen.

Einfluss des Karlsbader Salzes und des Marienbader Wassers (Kreuzbrunnen).

Die wohlthätige Wirkung einer Karlsbader oder Marienbader Kur bei vielen chronischen Leiden der Verdauungsorgane ist bekannt. Den Einfluss eines längeren Gebrauches derartiger purgirender Salzquellen auf die Ausscheidungsgrösse der Aetherschwefelsäuren im Harn zu prüfen, war mir natürlich von Interesse, und so führte ich denn diesbezügliche

Untersuchungen an mir selbst aus und an einem Laboratoriumdiener, der seit längerer Zeit an chronischem Gastrointestinalcatarrh litt.

Bei diesen Versuchen liess sich die Berechnung des Verhältnisses der präformirten Schwefelsäure zu der gepaarten Säure nicht wohl durchführen, da ja mit den Quellwässern Natriumsulfat und Kaliumsulfat u. s. w. eingeführt wird. Ich begnügte mich daher mit der Bestimmung der Aetherschwefelsäuren in 50 cbcm. Urin oder vielmehr mit der Berechnung der ganzen Menge im Urin von 24 Stunden.

Tafel XI.

Versuch an mir selbst mit Karlsbader Salz.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		A/B	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
20. II.	1730	1014	0,148	0,014	2,176	0,193	10,7	Deutlich	
22. »	1750	1015	0,165	0,012	2,425	0,176	13,7	Idem	
23. »	—	—	—	—	—	—	—	—	Vom 23. Februar bis zum 2. März nehme ich jeden Morgen 15 gr. Karlsbader Salz in 1/2 Liter Wasser. Dasselbe ruft 2—3 flüssige Stuhlentleerungen am Tage hervor.
24. »	1700	1016	—	0,020	—	0,286	—	Deutlich	
25. »	1300	1022	—	0,019	—	0,210	—	Schwach	
26. »	1500	1018	—	0,013	—	0,163	—	Spuren	
27. »	1100	1022	—	0,019	—	0,174	—	0	
28. »	1550	1015	—	0,012	—	0,156	—	0	
2. III.	1200	1025	—	0,017	—	0,171	—	Spuren	Das Salz wird ausgesetzt.
3. »	1400	1017	0,170	0,016	1,999	0,178	10,6	Schwach	
4. »	1250	1019	0,247	0,017	2,489	0,176	14,5	Idem	
5. »	1500	1016	0,193	0,017	2,431	0,211	11,3	Idem	

Tafel XII.

Rap, 42 Jahre alt; leidet seit mehreren Jahren an einem Gastrointestinalcatarrh. Viel Indol und Aetherschwefelsäure im Harn. Versuch mit Marienbader Wasser.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure gepaarte (B) in 50 cbcm. als $BaSO^4$.	Schwefelsäure gepaarte (B) in 24 Stunden als H^2SO^4.	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.				
10. III.	1100	1015	0,032	0,294	Stark	Am vorhergehenden Tage hatte er ungefähr 1 Liter Marienbader Wasser getrunken. Dasselbe wird bis am 17. März weitergebraucht.
11. »	1200	1017	0,028	0,272	Idem	
12. »	800	1020	0,052	0,402	Idem	Er klagt über allgemeines Unwohlsein.
13. »	1600	1010	0,031	0,416	Schwach	
14. »	1100	1020	0,015	0,138	Spuren	
15. »	1300	1017	0,013	0,141	Idem	Er fühlt sich besser.
16. »	1200	1017	0,014	0,141	Idem	
17. »	1000	1023	0,022	0,184	Deutlich	

Das Ergebniss der vorstehenden Versuche scheint mir einiges Interesse zu gewähren. Wir sehen bei längerem Gebrauch der abführenden Salze aus Karlsbad und Marienbad an den ersten Tagen eine beträchtliche Vermehrung der Aetherschwefelsäuren im Harn, sodann eine Verminderung, die weit beträchtlicher bei Rap, der schon längere Zeit an gestörter Verdauung leidet, auftritt als bei mir. de Vreis[1]) fand nach dem Gebrauch von purgirenden Mitteln eine Vermehrung der Indolausscheidung und Morax[2]) eine Zunahme der Aetherschwefelsäuren nach Darreichung einer reichlichen Gabe Ricinusöl. Man kann demnach unschwer sich vorstellen, dass die abführenden Wässer von Karlsbad und Marienbad durch Erzeugen einer Diarrhöe und Vermehren der im Darm enthaltenen Flüssigkeit anfänglich die Thätigkeit der Darmbacterien steigern, die Schleimabsonderung des Darmes an-

[1]) Maly's Jahresbericht, 1887, S. 277.
[2]) L. c.

regen und die Absorption der Fäulnissproducte unterstützen, später aber nach Abführung der Nahrungsreste und mit ihnen des Schleimes und der Microorganismen aus dem Darm eine Verminderung der Darmfäulniss bewirken.

Damit stimmt der Gebrauch, den Kranken jene Kuren längere Zeit hindurch zu verordnen, und die Erfahrung, dass oft Kranke während des Gebrauches von Karlsbader Wasser sich in den ersten Tagen schlechter fühlen als zuvor und erst in der Folge eine steigende Besserung verspüren.

Einfluss des Kefyrs und der Milchsäure.

In Russland, Oesterreich, Deutschland und in der Schweiz wird der Kefyr (eine fermentirte saure Milch) vielfach in Consumptionskrankheiten und namentlich in chronischen Leiden der Verdauungsorgane angewendet. Der liebliche Geschmack, der grosse Gehalt an Fett und Eiweiss lässt dieses Heilmittel und Nährmittel recht hülfreich erscheinen. Zudem ist seine Zubereitung recht einfach[1]). Um seine Wirkung auf die Darmfäulniss zu erproben, trinke ich täglich 1½ Liter.

Tafel XIII.

Versuche mit Kefyr an mir selbst.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
10. III.	1250	1020	0,215	0,020	2,275	0,210	10,7	Schwach	Vom 10. März ab nehme ich täglich 1½ Liter Kefyr in kleinen Einzelportionen.
11. »	2100	1012	0,131	0,012	2,310	0,211	10,9	Idem	
12. »	1900	1014	0,167	0,009	2,676	0,143	18,5	0	
13. »	1850	1014	0,171	0,011	2,675	0,170	15,5	0	
14. »	1720	1015	0,179	0,012	2,572	0,172	15,0	0	
16. »	—	—	—	—	—	—	—	—	Am Abend nehme ich 1 Liter Kefyr.
17. »	600	1010	0,142	0,007	—	—	20,3	0	

[1]) Ueber die Zubereitung und den Gebrauch des Kefyr siehe: Fischer, Die neueren Arzneimitttel, S. 169, Berlin 1887.

Die Tafel zeigt auf's Deutlichste, dass der Kefyr um $^1/_3$ nahezu die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren in meinem Harn vermindert und den Quotient A : B auf 20,3 steigert; dass es die Indoxylreaction aus dem Harn verschwinden macht.

Diese zufriedenstellenden Ergebnisse stimmen zu der Angabe von Pöhl[1]) über den Einfluss der Milchdiät und des Gebrauches saurer Milch. Ich muss noch die neueren Beobachtungen von Biernacki[2]) erwähnen, aus denen hervorgeht, dass, während bei gewöhnlicher Ernährung gesunde Menschen 0,197—0,222 gr. Aetherschwefelsäuren pro die ausscheiden, sie bei Milchkost nur 0,066 gr. am Tage abgeben; daraus schliesst der Autor, dass die Milch kein gutes Substrat für die Darmfäulniss ist.

Da der Kefyr etwa 1 $^0/_0$ Milchsäure enthält, könnte man daran denken, seine schützende Wirkung gegen die Fäulniss der Eiweisssubstanzen im Darm auf diese Substanz zurückzuführen. Es ist bekannt, dass A. Hirschler[3]) in seinen Studien über den Einfluss der Kohlehydrate und der Fettsäuren auf die Darmgährung fand, dass der Zucker, das Dextrin, das Glycerin und die Milchsäure im Stande sind, die Producte der Eiweissfäulniss, das Indol, Phenol und die aromatischen Säureverbindungen im Harn zu vermindern. Desgleichen berichten ausgezeichnete Kliniker und Experimentatoren, Hayem, Lésage, Thomas und Andere, vom wohlthätigen Einfluss der Milchsäure auf verschiedene Formen der Kinderdiarrhöe und Hayem konnte sie, nach Einfuhr grosser Gaben, in den Fäces wiederfinden. Alles weist auf einen keimtödtenden Einfluss der Milchsäure im Darme hin.

Ich glaubte deshalb mit Aussicht einige Untersuchungen darüber an mir anstellen zu können und nahm 15 gr. Milchsäure am Tage in Gestalt einer Limonade auf 1 Liter Wasser mit reichlichem Zuckerzusatz.

---

[1]) Nach Maly's Jahresbericht, 1887, S. 277.

[2]) L. c.

[3]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. X, 1886, S. 306.

Tafel XIV.

Versuche mit Milchsäure an mir selbst.

Datum.	Harn.		Schwefelsäure in 50 cbcm. als $BaSO^4$.		Schwefelsäure in 24 Stunden als H^2SO^4.		$\frac{A}{B}$	Indoxyl (Reaction).	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	A.	B.	A.	B.			
27. IV.	1100	1016	0,225	0,021	2,079	0,212	10,7	Deutlich	Am Abend nehme ich 15 *gr. Milchsäure.*
28. »	600	1015	0,244	0,013	—	—	18,7	Schwach	Morgenharn; im Laufe des Tages nehme ich 15 *gr. Milchsäure.*
29. »	1600	1020	0,238	0,013	3,198	0,174	18,3	Idem	Ich nehme wiederum 15 *gr. Milchsäure.*
30. »	2000	1012	0,121	0,010	2,032	0,168	12,1	Spuren	
31. »	1500	1016	0,294	0,015	2,570	0,189	13,6	Schwach	
3. V.	900	1027	0,214	0,026	2,374	0,198	12,0	Deutlich	

Aus den Versuchen ergibt sich ein mässiger Einfluss der Milchsäure in einer Tagesgabe von 15 gr. auf die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Harn; derselbe steht aber dem Einfluss des Kefyrs weit nach, vielleicht weil dieser nebenher die normale Verdauung besser beeinflusst, da er bis zu 1°/₀ Alkohol, verschiedene Salze und andere Substanzen enthält, welche in gleichem Sinne wie die Milchsäure gährungswidrig wirken.

Schlussfolgerungen.

Aus meinen Untersuchungen kann ich unter Berücksichtigung der wichtigsten Thatsachen Folgendes hervorheben:

1. Die quantitative Bestimmung der Aetherschwefelsäuren im Harn ist ein werthvolles Criterium zur Beurtheilung der Fäulnissvorgänge im Darm.

2. Die Ausscheidungsgrösse dieser Körper wechselt nach den Tageszeiten, so dass eine Berücksichtigung der gesammten Harnmenge von 24 Stunden für die Erlangung sicherer Ergebnisse unumgänglich ist.

3. Im Kindesalter erscheint jene Ausscheidung geringer als bei Erwachsenen.

4. Die Gruppe der Terpene und des Campfers, insonderheit das Terpentinöl und der Campfer, vermindern in grossen Gaben beim Hunde die Ausscheidung der Darmfäulnissproducte durch den Harn beträchtlich und nachhaltig.

5. Beim Menschen haben dieselben Substanzen nach Einfuhr per os oder per rectum nicht so erhebliche Wirkung wie beim Hunde; indessen erscheint ihre Anwendung bei verschiedenen Darmstörungen empfehlenswerth.

6. Tanninklystiere hatten bei einem Kranken mit chronischer Enteroperitonitis, die mit massenhafter Ausscheidung von Aetherschwefelsäuren im Harn einherging, nur eine geringe Verminderung dieser Körper zur Folge.

7. Grösseren Einfluss darauf zeigten reichliche Einspülungen von gesättigter Borsäurelösung in den Darm; aber die Absorption dieser Lösung von der Darmschleimhaut aus hatte schwere Allgemeinstörungen zur Folge.

8. Der Gebrauch des Karlsbader Salzes und der Marienbader Abführwässer ruft in den ersten Tagen eine vermehrte Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren, aber in der Folge eine Verminderung derselben hervor, die um so beträchtlicher ist, je schwerer vorher die Darmverdauung gestört war.

9. Der Kefyr ist in Tagesgaben von $1^1/_2$ Liter ein ausgezeichnetes Mittel zur Einschränkung der Darmfäulniss; seine Wirkung beruht zum Theil auf dem Gehalt an Milchsäure.

Indem ich diese Mittheilung abschliesse, erfülle ich eine willkommene Pflicht, wenn ich Herrn Professor Baumann öffentlich für das freundliche Entgegenkommen danke, mit welchem er mir die Hülfsmittel seines Laboratoriums zur Verfügung stellte, und für den lebhaften Antheil, welchen er an meinen Untersuchungen nahm.

Untersuchungen über den Kohlehydratgehalt des faulenden Menschenharns.

Von

Dr. med. G. Treupel.

(Aus dem Laboratorium des Herrn Professor Dr. Baumann, Freiburg i. B.)

(Der Redaction zugegangen am 6. August 1891.)

Dass bei der Fäulniss des Harns merkliche Mengen von Fettsäuren gebildet werden, ist seit längerer Zeit bekannt. Nach Neubauer's[1]) Beobachtungen kann man aus jedem alten Harn, insbesondere dem diabetischen, Essigsäure in erheblicher Menge mit Leichtigkeit abscheiden. Röhmann[2]), welcher zuerst versuchte, die Bildung von Säuren bei der Harngährung auf den Zuckergehalt des normalen Harns zurückzuführen, fand, dass ein Zusatz von geringen Mengen von Zucker (0,25 %) zum Harn die Säurebildung (bei der sogenannten sauren Harngährung) ganz erheblich vermehrt. Damals war indessen der Gehalt des normalen Harns an Zucker noch keineswegs erwiesen, und aus diesem Grunde war es damals nicht möglich, aus jenen Versuchen bestimmtere Schlüsse auf die Art der Entstehung der im normalen Harn bei der Gährung auftretenden Säuren zu ziehen. Seitdem durch die Darstellung der Benzoylester von Zuckerarten aus normalem Harn [Baumann[3]), Wedenski[4])], ferner durch die ungemein empfind-

---

[1]) Neubauer u. Vogel, Analyse des Harns, 7. Aufl., 1876, S. 8.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 5, S. 102.
[3]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Jahrg. XIX, S. 3218.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 120 u. ff.

liche Furfurolreaction von v. Udránszky[1]) (Molisch) der Zuckergehalt des normalen Harns sicher bewiesen ist, hat die Frage nach der Säurebildung bei der Zersetzung des Harns ein erneutes Interesse gewonnen.

Salkowski[2]) hat vor wenigen Jahren die Untersuchung dieser Beziehungen wieder aufgenommen und in Uebereinstimmung mit älteren Autoren gefunden, dass der gefaulte Harn grosse Mengen von Essigsäure neben einigen anderen Fettsäuren enthält, und dass diese Säuren im Wesentlichen aus den Kohlehydraten des Harns gebildet werden. Salkowski hat dabei die Beobachtung gemacht, dass der gefaulte Harn noch nach längerer Zeit die Reactionen zeigt, durch welche v. Udránszky den Zuckergehalt des normalen Harns erwiesen hat, wonach mithin die Zersetzung der Kohlehydrate bei der ammoniakalischen Harngährung keine ganz vollständige zu sein scheint (vergl. auch später S. 64). Diese Wahrnehmung erinnert an eine von Liebig[3]) gemachte Beobachtung, welcher fand, dass, wenn man dem frischen Harn Zucker oder Milchzucker zusetzt und ihn wie gewöhnlich faulen lässt, noch nach 3 Monaten unveränderter Zucker oder Milchzucker sich vorfindet. Die Beobachtung Salkowski's ist aber noch leichter verständlich, wenn man sich erinnert, dass — wie Wedenski[4]) und Luther[5]) gezeigt haben — der Zuckergehalt des Harns nur zum Theil aus Traubenzucker, wahrscheinlich zum grösseren Theil aus einer dextrinartigen Substanz, welche mit dem «thierischen Gummi» von Landwehr[6]) identisch ist, besteht; letzteres gehört aber jedenfalls zu den beständigsten Körpern unter den Kohlehydraten.

Dieser Punkt ist bei den Berechnungen, welche Salkowski über die Mengenverhältnisse von Zucker und Säure

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 5, S. 380.
2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 270, 1889.
3) Ann. d. Chem. u. Pharmac., Bd. 50, S. 163.
4) L. c.
5) E. Luther, Ueber das Vorkommen von Kohlehydraten im normalen Harn, I.-D., Freiburg i. B. 1890, S. 32.
6) Centralblatt f. d. medic. Wissenschaft, 1885, No. 21.

des faulenden Harns anstellt, nicht berücksichtigt; denn Salkowski geht dabei von der nicht zutreffenden Voraussetzung aus, dass der Kohlehydratgehalt des Harns nur aus Traubenzucker bestehe.

Um die Veränderungen nun genauer zu ermitteln, welche der Kohlehydratgehalt des Harns bei der Harngährung erfährt, sind die im Folgenden beschriebenen Untersuchungen — auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Baumann und mit seiner gütigen Unterstützung — von mir vorgenommen worden.

Die Methode, welche ich benutzte, um mir über den jeweiligen Gehalt an Kohlehydraten eines faulenden Harns Aufschluss zu verschaffen, war fast ausschliesslich die oben erwähnte Furfurolreaction mit α-Naphthol und Schwefelsäure. Ihre Resultate habe ich dann des Oefteren mit denen verglichen, welche die Benzoylirung des Harnes nach Baumann[1]) lieferte. Es sei mir gestattet, ehe ich die Ergebnisse der einzelnen Harnuntersuchungen anführe, Einiges über die Furfurolreaction selbst zu sagen, und die Erfahrungen, welche ich bei der Anwendung dieser Methode zu machen Gelegenheit hatte, hier niederzulegen. Auf die Methode der Benzoylirung des Harnes werde ich später eingehen.

Vor mehreren Jahren hat Molisch[2]) für die Zwecke klinischer Harnuntersuchungen eine Zuckerreaction angegeben, welche darin besteht, dass in den mit α-Naphthol versetzten Harnen auf Zusatz von concentrirter Schwefelsäure eine charakteristische sherry- bis rubinrothe resp. violette Färbung eintritt. L. von Udránszky[3]) erkannte dann, dass diese Reaction auf der Bildung von Furfurol beruhe, welches mit α-Naphthol diese charakteristische Färbung gibt, und dass sie nicht nur dem Traubenzucker allein, sondern allen Kohlehydraten überhaupt zukomme. Er war es auch, der auf Grund sehr zahlreicher Harnuntersuchungen die Reaction zu einer Methode gestaltete, welche zur praktischen Untersuchung

---

[1]) Ber. d. deutch. chem. Ges., XIX, S. 3218.

[2]) Sitzungsberichte d. Wien. Akad. d. Wissenschaft., Bd. XCIII, 2. Abth., S. 912.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 5, S. 380.

sich eignete[1]). Nach dieser Methode hat dann Luther[2]) in seiner Inaugural-Dissertation gearbeitet. Die Erfahrungen, welche er dabei gemacht hat, sind dort, S. 7—16, ausführlich besprochen. Den von Luther angegebenen Modificationen schliesst sich im Wesentlichen Roos[3]) an und endlich sprechen sich Posner und Epenstein[4]) für die praktische Verwerthbarkeit der «α-Naphtholprobe auf Zucker» entschieden aus.

Während von Udránszky, Luther und Roos sich bei Beobachtung der Reaction an den violetten Farbenring hielten, welcher an der Schichtgrenze zwischen Schwefelsäure und der mit α-Naphthol und Wasser versetzten Substanz entsteht, beobachteten die letztgenannten Autoren die Farbe des Reactionsgemisches, welches sie entsprechend mit Wasser verdünnten und alsdann mit vorher angefertigten, ebenso behandelten, künstlich hergestellten Zuckerharnen von bekanntem Gehalt verglichen.

Auch ich habe mich bei der Beobachtung der Reaction an die Farbe des Reactionsgemisches auf Grund später zu erörternder Erfahrungen gehalten. Indessen ist stets auch die Ringprobe beachtet worden und es sollen die Grenzbestimmungen bei einzelnen Harnuntersuchungen später angeführt werden.

Als ich bei meinen Voruntersuchungen mit dem Verlauf der Reaction bekannt wurde und — mich dabei an die Vorschriften Luther's haltend — zunächst die Reinheit der Reagentien prüfte, stellte sich heraus, dass die Schwefelsäure, welche mir zu Gebote stand, keineswegs den Grad von Reinheit besass, welchen Luther dafür verlangt. Enthält nämlich die Schwefelsäure geringste Spuren von Salpetersäure, welche

---

[1]) L. c., S. 387.

[2]) E. Luther, Ueber das Vorkommen von Kohlehydraten im normalen Harn, I.-D., Freiburg i. B. 1899.

[3]) E. Roos, Ueber das Vorkommen von Kohlehydraten im Harn von Thieren, I.-D., Freiburg i. B. 1891.

[4]) «Studien zum Diabetes» von Dr. C. Posner und Dr. H. Epenstein, Sonderabdruck aus d. Berlin. klin. Wochenschr., 1891, No. 8.

man selbst mit keiner der sonst gebräuchlichen Methoden — z. B. Auftreten eines braunen Ringes an der Schichtgrenze, wenn man die zu prüfende Schwefelsäure vorsichtig unter eine Auflösung von Eisensulfat schichtet — nachweisen kann, so entsteht nach Luther beim Zusatz von α-Naphthol zu Schwefelsäure Grünfärbung. Als genügend rein kann man unter Anderem nach ihm die Schwefelsäure erst dann bezeichnen, wenn nach Zusatz von 1 Tropfen α-Naphthol zu 1 cbcm. Schwefelsäure und Umschütteln nur eine Gelbfärbung oder eine schwache Grünfärbung entsteht, welche fast momentan einer reinen Gelbfärbung Platz macht. Da ich eine solche Schwefelsäure nirgendwoher erhalten konnte und auf Selbstdestillation der mir zu Gebote stehenden Schwefelsäure verzichten musste, so suchte ich nach einer Methode, welche es mir ermöglichte, auch mit dieser Schwefelsäure die Reaction gut ausführen zu können. Ich stellte durch zahlreiche Versuche fest, dass man ohne Beeinträchtigung der Schärfe der Reaction eine bis zu einem gewissen (allerdings geringen) Grade verunreinigte Schwefelsäure benutzen kann, sofern man sich bei Beurtheilung der Reaction nicht an den Farbenring, sondern die Farbe des Reactionsgemisches hält. Zu diesen Versuchen nahm ich normalen Harn, welcher auf das 5fache seines Volums verdünnt war, und eine sehr reine Schwefelsäure, welche mit Salpetersäure in geringsten Spuren verunreinigt war. Die Verunreinigung mit Salpetersäure kann bis zu 0,00006 % gehen, ohne dass die Empfindlichkeit der Reaction darunter leidet (vergleiche auch S. 57).

Bei den später beschriebenen Harnuntersuchungen verwandte ich die «reine conc. Schwefelsäure» des Laboratoriums und habe nie dadurch irgend welche Störungen in meinen Untersuchungen bekommen.

Stellt man die Reaction so an, dass man zu einem Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit 1 Tropfen der α-Naphthollösung, ½ cbcm. Wasser und 2 cbcm. Schwefelsäure bringt, und schüttelt man dann kräftig um, so tritt eine ziemlich beträchtliche Erwärmung der Flüssigkeit ein. Dass diese Erwärmung zum Zustandekommen der Reaction noth-

wendig, heben schon Luther und Roos[1]) hervor. Ferner ist aber auch der Grad der Erwärmung von Einfluss auf die resultirende Mischfarbe. Ich konnte dies direct constatiren, indem sonst genau gleich behandelte Proben, im Wasserbad bei verschiedenen Temperaturen und verschieden lang erhitzt, nicht gleiche, sondern entsprechend dem Grad und der Dauer der Erwärmung verschiedene Mischfarben zeigten: es trat mehr und mehr die rothe Farbe hervor. Auch zeigte sich bei diesen Versuchen, dass die Grünfärbung, welche bei der Prüfung auf die Reinheit der Schwefelsäure, wie oben angegeben, nach dem Umschütteln des Gemisches auftrat, rascher beim Erhitzen der Probe im Wasserbad einer Gelbfärbung Platz machte, als es der Fall war, wenn man die Probe sich selbst überliess. Da also eine verschiedengradige Erwärmung, wie wir oben sahen, auch eine verschieden intensive Mischfarbe bedingt und andrerseits der Grad der Erwärmung des Reactionsgemisches beim Schütteln abhängig ist von den Mengen des Wassers und der Schwefelsäure, welche auf einander einwirken, so ist es klar, dass man nur dann stets genau gleiche Mischfarben nach dem Umschütteln — ceteris paribus — haben wird, wenn die auf einander einwirkenden Quantitäten Wasser und Schwefelsäure stets die gleichen sind.

Was endlich das Lösungsmittel für das α-Naphthol, welches übrigens selbst rein sein muss[2]), betrifft, so gab von Udránszky den mit Thierkohle behandelten absoluten Alkohol[3]) dafür an. Luther[4]) verliess denselben, weil auch der reine absolute Alkohol noch geringe Beimengungen enthalten könne, welche es bedingten, dass eine Lösung von α-Naphthol darin mit Schwefelsäure allein schon eine Furfurolreaction gäbe. Er wandte als Lösungsmittel Chloroform an. Das Chloroform

---

[1]) Luther, l. c, S. 12; Roos, l. c., S. 12.

[2]) Ein solches Präparat aus der Fabrik von Bayer & Co., Elberfeld, stellte mir Herr Dr. Hinsberg gütigst zur Verfügung.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII., S. 366.

[4]) L. c., S. 11.

hat aber, wie auch Posner und Epenstein[1]) hervorheben, den Nachtheil, dass es rasch verdunstet und sich in Folge dessen die Ausgussöffnungen des Tropfenzählers sehr bald durch das sich abscheidende α-Naphthol verstopfen; ferner — und das ist das Wichtigere — ist es ausserordentlich schwer, wegen der geringen Adhäsion des Chloroforms zum Glase, nur einen einzigen Tropfen in das Reagensglas fallen zu lassen. Sobald aber 2 oder 3 Tropfen α-Naphthol in dem Reactionsgemisch enthalten sind, modificirt sich auch die Mischfarbe. Aus diesem letzteren Grunde benutze ich als Lösungsmittel den acetonfreien Methylalkohol[2]), nachdem ich zuvor mittelst der von v. Udránszky gegebenen Vorschrift[3]) constatirt hatte, dass derselbe keine Furfurolreaction gab. Ausserdem wurde in einer grossen Zahl von Harnproben normaler und faulender Harne der Kohlehydratgehalt sowohl mit der chloroform. α-Naphthollösung, als auch mit der Methylalkohollösung von α-Naphthol bestimmt, wobei ich stets zu übereinstimmenden Resultaten gelangte.

Fasse ich jetzt kurz noch einmal Alles zusammen, so ist zu sagen, dass man nur dann, aber dann auch stets genau gleiche oder zu Vergleichen geeignete Reactionsproben erhält, wenn man folgende Vorschriften beachtet:

Alle zur Untersuchung eines Harns benutzten Gläser müssen absolut rein und trocken sein; insbesondere gilt dies von den Reagensgläsern. Die zur Verwendung kommenden Tropfenzähler müssen möglichst gleich grosse Tropfen liefern. Die Tropfen müssen auf den Boden des Reagensglases fallen. Es darf nicht ungefähr $^1/_2$ cbcm. destill. Wasser und 1 cbcm. Schwefelsäure zugesetzt werden, sondern stets genau $^1/_2$ cbcm. Wasser und 1 cbcm. Schwefelsäure. Man erreicht das am besten, wenn man auch diese Reagentien in Tropfenzählern aufbewahrt und jedesmal die vorher festgestellte, $^1/_2$ cbcm. Wasser, 1 cbcm. Schwefelsäure entsprechende Tropfenzahl

---

[1]) L. c., S. 4.

[2]) Auch diesen verdanke ich der Güte des Herrn Dr. Hinsberg.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 4, S. 356.

zur Probe fügt. Die Schwefelsäuretropfen lässt man bei schräger Haltung des Reagensglases auf die Wandung desselben fallen. Auf diese Weise lässt sich die bereits im Glase vorhandene geringe Flüssigkeitsmenge sehr gut unterschichten. Die zu Vergleichsproben benutzten Traubenzuckerlösungen[1]) müssen stets neutral reagiren und die von ihnen genommenen Proben müssen mit derselben Schwefelsäure hergestellt werden, welche zu den Harnproben benutzt wird. Die Proben der Traubenzuckerlösungen dürfen nicht noch am nächsten Tage als Vergleichsproben dienen, sondern sind vor jeder Untersuchung wieder zu erneuern. Endlich empfiehlt es sich, ehe man die Untersuchungsreihe beginnt, eine Controllprobe vorzunehmen, um zu constatiren, ob die Reagentien nicht an sich schon die Reaction geben: 1 Tropfen α-Naphthollösung + $^1/_2$ cbcm. destill. Wasser + 1 cbcm. Schwefelsäure werden in der beschriebenen Weise mit einander versetzt: es darf an der Schichtgrenze kein violetter Ring auftreten — tritt ein Ring auf, so darf er nur grüngelb oder gelb sein — und nach dem kräftigen Umschütteln darf die grüngelbe oder gelbe Farbe keinen röthlichen oder violetten Schimmer annehmen.

Bei allen Vorversuchen und auch bei den Harnuntersuchungen habe ich die spectroscopischen Erscheinungen ebenfalls stets berücksichtigt. Ich kann in Allem die von Luther darüber gemachten Angaben[2]) bestätigen.

Als Grenzwerth[3]), bei welchem eine deutliche Reaction nach dem Umschütteln eintritt, so dass die Mischfarbe einen violetten oder röthlichen Schimmer erhält, ergab sich mir die 0,01 % Traubenzuckerlösung.

---

[1]) Siehe auch S. 10.

[2]) L. c., S. 7 u. 8.

[3]) Als Grenzwerth der Ringprobe, d. h. als diejenige geringstprocentige Traubenzuckerlösnng, welche beim Anstellen der Probe noch einen deutlich violetten Ring liefert, geben v. Udránszky und Luther die 0,02 % Traubenzuckerlösung an. Auch bei 0,01 % Traubenzuckerlösung fand ich noch die Ringprobe; der Ring ist blasser und nicht so scharf abgegrenzt.

Will man den Kohlehydratgehalt eines Harns bestimmen, so stellt man sich zunächst von geeigneten Traubenzuckerlösungen (z. B. 0,1%, 0,06%, 0,05%, 0,03%, 0,02%, 0,01%) Proben her, indem man 1 Tropfen der Lösung mit 1 Tropfen α-Naphthollösung, so viel Tropfen dest. Wasser, als ½ cbcm. Wasser, und so viel Tropfen Schwefelsäure, als 1 cbcm. Schwefelsäure entspricht, in der angegebenen Weise versetzt, das Erscheinen des violetten Ringes beobachtet und dann kräftig schüttelt. Sofort oder sehr bald treten die schön himbeerroth bis violetten Färbungen auf. — Auch bei der 0,01% Lösung überzeugt man sich leicht von der röthlichen oder blass violetten Mischfarbe, wenn man sie mit der oben angegebenen Controllprobe vergleicht. — Jetzt fertigt man sich genau in derselben Weise die einzelnen Harnproben an von dem Harn, den man dabei fortschreitend auf das 2-, 3- u. s. w. fache seines Volums verdünnt. Jede neue Harnprobe vergleicht man vor einem weissen Stück Papier mit der Farbenscala der Zuckerlösungsproben und setzt das Verdünnen des Harns so lange fort, bis man eine Harnprobe hat, deren Mischfarbe genau oder möglichst genau der Mischfarbe einer der Zuckerlösungsproben entspricht. Man hat nun den Procentgehalt dieser Lösung mit der Zahl zu multipliciren, welche angibt, auf das Wievielfache seines Volums der Harn verdünnt war, um den Procentgehalt des untersuchten Harns an Kohlehydraten[1] — bezogen auf eine Traubenzuckerlösung — zu finden. Es soll hier ausdrücklich betont werden, dass, wenn im Folgenden z. B. gesagt wird: «Kohlehydratgehalt des Harns 0,1%», dies nur eine abgekürzte Bezeichnung sein kann. Genau genommen dürfte man nur sagen: «der Harn enthält eben so viel Furfurol liefernde Substanzen, als eine 0,1% Traubenzuckerlösung».

Dass der normale Menschenharn Kohlehydrate enthält, ist jetzt von den verschiedensten Untersuchern festgestellt

[1]) Ausser den Kohlehydraten geben auch Eiweisssubstanzen, welche im Harn vorkommen können, die Furfurolreactionen. Aus eiweisshaltigem Harn ist das Eiweiss zunächst zu entfernen.

worden[1]); es schwankt nach von Udránszky[2]) der Kohlehydratgehalt im frischen normalen Menschenharn zwischen 0,075 % und 0,35 %.

Wie sich dieser Kohlehydratgehalt des frischen Harns allmälig ändert beim Stehen und Faulen des Harns unter verschiedenen Bedingungen, das zu zeigen ist der Zweck nachfolgender Untersuchungen:

Es wurden zunächst mässig grosse Quantitäten Harn (4—6 und 8—10 Liter) gesammelt. Mehrere Harne wurden bei freiem Luftzutritt, mehrere bei Luftabschluss zum Faulen sich selbst überlassen. Vorher war von allen Harnen der Kohlehydratgehalt mit der Furfurolprobe, wie oben angegeben, bestimmt worden. Bei der jedesmaligen Untersuchung wurde eine gewisse Quantität Harn abfiltrirt und specifisches Gewicht, Farbe und Reaction bestimmt.

Als Beispiel für die Methode mag hier eine Bestimmung ausführlich wiedergegeben werden.

Harn: Spec. Gew. (25° C.) 1016.
Farbe: rothgelb.
React.: schwach sauer.

Proben:

1. Harn unverdünnt: Ringprobe sehr deutlich. Mischfarbe etwas schwächer als 0,06 %. Absorptionsstreifen zwischen D und E, blasser und breiter als bei der 0,06 % Zuckerlösungsprobe.
2. Harn auf das 2fache seines Volums verdünnt: Ringprobe deutlich. Mischfarbe und Absorptionsstreifen intensiver als 0,02 %.
3. Harn auf das 3fache seines Volums verdünnt: Ringprobe deutlich. Mischfarbe fast gleich 0,02 %, etwas schwächer. So auch Absorptionsstreifen.
4. Harn auf das 2,8fache seines Volums verdünnt: Ringprobe wie bei 3. Mischfarbe = 0,02 %. Ebenso Absorptionsstreifen.

---

[1]) Eine ausführliche Literaturangabe bezüglich der Frage, ob der normale Harn Zucker enthalte, findet sich z. B. in Dr. F. Moritz, Ueber die Kupferoxyd reducirenden Substanzen des Harns unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen (D. Arch. f. klin. Med., Bd. XLVI, S. 353). Vergl. auch Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 5, S. 377—382.

[2]) Ber. d. naturforsch. Ges. z. Freiburg i. B., Bd. IV, Heft 5, S. 18.

5. Harn auf das 5,4fache seines Volums verdünnt: Ringprobe nicht mehr deutlich. Mischfarbe eine Spur intensiver als 0,01 %. Absorptionsstreifen wie bei 0,01 %.
6. Harn auf das 5,6fache seines Volums verdünnt: Mischfarbe = 0,01 %. Mithin: 5,6 × 0,01 oder 2,8 × 0,02 = 0,056 % [1]).

Harn I am 11. VI. zum Faulen hingestellt.
Harn II am 17. VI. zum Faulen hingestellt.
Harn III am 23. VI. zum Faulen hingestellt.
Harn IV am 26. VI. zum Faulen hingestellt.
Harn I und IV offen (freier Luftzutritt).
Harn II und III geschlossen (Luftabschluss).

Die Temperatur, bei welcher diese Harne faulen sollten, betrug durchschnittlich 20° C.; der Kohlehydratgehalt war vor Eintritt der Gährung bei allen nahezu derselbe, 0,1 %. Die Harne waren sämmtlich eiweissfrei.

Um zu sehen, ob das Abfiltriren vielleicht den mit der Furfurolprobe bestimmten Gehalt modificirte, wurden filtrirte und unfiltrirte Proben desselben Harns bestimmt. Das Resultat war in beiden Versuchsreihen das gleiche, auch stimmten die betreffenden Proben, unter sich verglichen, mit einander überein.

Ferner wurde nochmals constatirt, dass eine Schwefelsäure, welche so «unrein» war, dass der sich an der Schichtgrenze bildende schmutzig-grüne Ring die Beobachtung des über ihm befindlichen violetten Ringes beeinträchtigte, die Genauigkeit der Bestimmung in keiner Weise beeinflusst,

---

[1]) Wenn ich hier und im Folgenden die Zahlen auf die 3. Decimalstelle angebe, so bin ich mir sehr wohl bewusst, dass ihnen nach dem Wesen der ganzen Methode nicht der Werth der Genauigkeit beigemessen wrrden darf, den man sonst wohl Zahlenangaben beizulegen geneigt ist. Es soll dadurch nur zu einem gewissen sichtbaren Ausdruck gebracht sein, wie ausserordentlich fein die einzelnen Mischfarben bezüglich der Intensität ihrer Färbung von dem Auge noch unterschieden werden und wie genau sich also die Schüttelproben mit einander vergleichen lassen. Im obigen Beispiel konnte so die um $^{2}/_{10}$ geringere Verdünnung des Harns, von welchem doch nur 1 Tropfen verwandt wird, noch deutlich an der Intensität der Mischfarben erkannt werden.

wenn man sich an die Mischfarben hält; vorausgesetzt, dass auch die zum Vergleiche bestimmten Zuckerlösungsproben mit derselben «unreinen» Schwefelsäure hergestellt werden.

Harn I: Spec. Gew. (20° C.): 1014.
Farbe: goldgelb, seit dem 17. VI. weinmostfarben (milchig gelb).
React.: schwach sauer.

Harn II: Spec. Gew. (20° C.): 1016.
Farbe: rothgelb.
React.: sauer.

Kohlehydratgehalt:

	17. VI.	18. VI.	19. VI.	20. VI.	22. VI.	23. VI.	25. VI.
Harn I . .	0,05 %	0,03 %	0,03 %	0,03 %	0,034 %	0,034 %	0,03 %
Harn II . .	0,1 %	0,06 %	0,056 %	0,056 %	0,056 %	0,056 %	0,056 %

Harn III: 23. VI.: Spec. Gew. (20° C.): 1018.
Farbe: goldgelb.
React.: sauer.
Kohlehydratgehalt: 0,1 %.
25. VI.: Dasselbe.

Da der Kohlehydratgehalt der Harne I und II nicht mehr abzunehmen schien, so wurde die Benzoylirung dieser Harne vorgenommen und zwar so, dass je 10 cbcm. Harn, aus dem durch Natronlauge die Phosphate entfernt waren, mit 10 cbcm. 10% Natronlauge und 1 bis 2 cbcm. Benzoylchlorid versetzt und so lange geschüttelt werden — unter Abkühlung des Gemisches —, bis der Geruch nach Benzoylchlorid verschwunden war. Zum Vergleiche werden auch Harn III und IV benzoylirt, von denen Harn IV (bei einem spec. Gew. von 1017, goldgelber Farbe und saurer Reaction) einen Kohlehydratgehalt von 0,06% hatte. Die Mengen der bei der Benzoylirung dieser 4 Harne ausfallenden Ester gingen den Resultaten parallel, welche die Furfurolreaction ergeben hatte.

Filtrirte man den erhaltenen Niederschlag des Estergemenges ab und prüfte Filtrat und Niederschlag getrennt auf die Furfurolreaction, so gab wohl das Filtrat auch noch eine Reaction — entsprechend der Thatsache, dass nicht die

gesammte Kohlehydratmenge in Ester beim einmaligen Benzoyliren übergeführt wird[1]). Diese Furfurolreaction des Filtrates blieb aber stets erheblich viel schwächer als die intensive Reaction, welche der Niederschlag lieferte. Mit dem Filtrat, welches alkalisch reagiren soll, nimmt man die Reaction in der gewöhnlichen Weise vor; bei Prüfung des Niederschlags, der tüchtig vorher ausgewaschen wird, empfiehlt es sich, zu einem Körnchen des getrockneten oder zu einem Tropfen des mit Wasser geschlemmten Niederschlags zunächst 1 cbcm. Schwefelsäure zu fügen. Die Ester lösen sich beim Umschütteln in der Schwefelsäure auf; jetzt erst setze man 1 Tropfen α-Naphthollösung und $^1/_2$ cbcm. dest. Wasser in der gewohnten Weise zu und schüttele krüftig um. — Es gelang selbst bei wiederholter Benzoylirung des Filtrates nicht, alle Kohlehydrate als Ester zu fällen; wenigstens gab auch nach wiederholter Benzoylirung einer beträchtlichen Harnmenge das Filtrat stets noch eine, allerdings sehr schwache Furfurolreaction. Prüfte man ein solches Filtrat, nachdem es ungefähr 14 Tage sich selbst überlassen gestanden hatte, nochmals auf die Reaction, so fiel sie vollkommen negativ aus.

Bei stark faulenden, d. h. alkalischen Harnen, entsteht, wenn man sie nicht vorher mit Wasser verdünnt, bei der Benzoylirung ein reichlicher Niederschlag von Benzamid, welches als solches an den glänzenden Krystallen erkannt werden kann, die bei 129° schmelzen und unzersetzt subli-miren — (wenn es in Folge von Verunreinigungen sich in Form von gelb-weissen Kügelchen abscheidet, so wird es durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser leicht rein erhalten). — Dieselbe Beobachtung machte auch Roos[2]) an frischen Thier-(Hunde-) Harnen, welche reichlich Ammoniak enthalten.

In der Folge wurde stets die Benzoylirung neben der Furfurolreaction ausgeführt; da, wie bereits erwähnt, die dabei gewonnenen Resultate einander parallel gingen, so soll die Benzoylirung nicht stets wieder ausdrücklich bemerkt werden. Dagegen ist hier vielleicht der Ort, noch einer Versuchsreihe

---

[1]) E. Roos, l. c., S. 15.
[2]) L. c., S. 27.

Erwähnung zu thun. An der Hand zahlreicher Harnproben habe ich mir nämlich ein Urtheil darüber zu bilden gesucht, ob sich wohl die Benzoylirung der Harne zu einer praktischen quantitativen Zuckerbestimmungsmethode eignete. Ein Harn von saurer Reaction, dessen Kohlehydratgehalt mit der Furfurolreaction auf 0,12 % berechnet war, wurde, wie oben zugegeben, benzoylirt. Alle Proben lieferten dasselbe Resultat. Es wurden dann von diesem Harn künstliche Zuckerharne mit bekanntem Traubenzuckergehalt hergestellt und benzoylirt, wobei die Zuckermengen der Reagentien variirten. Es ergab sich zunächst, dass man nur dann annähernd gleiche resp. entsprechende Resultate erzielt, wenn ein genaues und zwar für alle Proben dasselbe Verhältniss von Natronlauge zu Benzoylchlorid festgehalten wird[1]) und zwar dürfte für die Probe im Reagensglas am zweckentsprechendsten sein:

10 cbcm. Harn (von den Phosphaten befr.),
+ 10 cbcm. 10 % Natronlauge,
+ 1 cbcm. Benzoylchlorid.

Aber auch dann entstehen noch Schwierigkeiten in der Beurtheilung der Menge des Niederschlags. Denn derselbe senkt sich nicht etwa, wie das Eiweiss bei der Esbach'schen Eiweissbestimmung, allmälig ganz zu Boden, so dass man an der Höhe der Niederschlagssäule einen Anhaltspunkt für die Berechnung des Procentgehaltes gewinnen könnte. In Folge der Klebrigkeit der einzelnen Partikelchen haftet nämlich ein Theil der Abscheidung an den Wandungen des Reagensglases, andere Theilchen schwimmen auf der Oberfläche oder bleiben sehr lange in der Flüssigkeit suspendirt und sinkt nur ein Bruchtheil zu Boden. Diesen Uebelstand zu beseitigen, ist mir auf keine Weise gelungen. Ich nahm daher vorläufig von weiteren derartigen Versuchen Abstand.

Sehen wir nun wieder zu, wie sich im weiteren Verlauf die 4 Harne verhielten. Der Uebersicht halber nehme ich den auf Seite 58 zusammengestellten Kohlehydratgehalt der Harne I und II noch einmal in die folgenden Tabellen mit auf:

---

[1]) Wie auch Wedenski (Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XIII, S. 120) ausdrücklich betont.

Harn I.

Ursprünglicher Kohlehydratgehalt: 0.1 %, fault bei gewöhnlicher Temperatur: offen.

	Kohlehydrat-gehalt.	Bemerkungen.	Specifisches Gewicht.	Farbe.	Reaction.
Nach 6 Tagen	0,05 %	—	1014 (20° C.)	trüb bernstein-gelb	schwach sauer
» 7 »	0,03 %	—	—	—	—
» 8 »	0,03 %	—	—	—	—
» 9 »	0,03 %	—	—	—	—
» 11 »	0,034 %	—	—	—	—
» 12 »	0,034 %	—	—	—	—
» 14 »	0,03 %	—	—	—	—
» 15 »	0,02 %	—	1014 (20° C.)	trüb bernstein-gelb	neutral
» 18 »	0,02 %	—	1012 (27° C.)	trüb bernstein-gelb	alkalisch
» 23 »	0,016 %	—	1012 (27° C.)	ebenso	alkalisch
» 31 »	0,01—0,02 %	Genauere Bestimmung nicht mehr möglich	1014 (21° C.)	trüb bernstein-gelb	alkalisch
» 37 »	0,01—0,02 %	Grenze der Ringprobe bei Verdünnung auf das 2fache des Harnvolums	1014 (21° C.)	ebenso	alkalisch
» 44 »	0,01—0,02 %	—	1017	ebenso	alkalisch

Harn II.

Ursprünglicher Kohlehydratgehalt: 0,1 %, fault bei gewöhnlicher Temperatur: geschlossen.

	Kohlehydrat-gehalt.	Bemerkungen.	Specifisches Gewicht.	Farbe.	Reaction.
Nach 2 Tagen	0,06 %	—	1016 (20° C.)	rothgelb	sauer
» 3 »	0,056 %	—	1016 (20° C.)	rothgelb	sauer
» 4 »	0,056 %	—	—	—	—
» 6 »	0,056 %	—	—	—	—
» 7 »	0,056 %	—	—	—	—
» 9 »	0,05 %	—	1016 (20° C.)	rothgelb	sauer
» 12 »	0,046 %	—	1016 (20° C.)	goldgelb	sauer
» 16 »	0,045 %	—	1015	goldgelb	sauer
» 24 »	0,06 %	—	1016	goldgelb	schwach sauer
» 30 »	0,06 %	Grenze d. Ringprobe b. e. Verdünn. d. Harns auf das 6fache s. Vol.	1016	goldgelb	schwach sauer
» 37 »	0,09 %	—	1016 (20° C.)	strohgelb	schwach sauer
» 43 »	0,06 %	Grenze d. Ringprobe b. e. Verdünn. d. Harns auf das 6fache s. Vol.	1016	strohgelb	schwach sauer
« 47 »	0,05 %	--	1016 (20° C.)	trüb bernstein-gelb	neutral

Harn III. Ursprünglicher Kohlehydratgehalt: 0,1 %, fault bei gewöhnlicher Temperatur: geschlossen.

	Kohlehydrat-gehalt.	Bemerkungen.	Specifisches Gewicht.	Farbe.	Reaction.
Nach 4 Tagen	0,07 %	Fällt in d. Zeit v. 26.-30. VI., in denen die Tagestemp. bis 30° C. stieg	1018 (20° C.)	goldgelb	sauer
» 7 »	0,048 %	—	1018	goldgelb	sauer
» 10 »	0,048 %	—	1018	goldgelb	sauer
» 21 »	0,09 %	—	1018	grünlich gelb	schwach sauer
» 24 »	0,045 %	Grenze d. Ringprobe b. e. Verdünn. d. Harns auf das 5 fache s. Vol.	1018	trüb bernstein-gelb	neutral
» 31 »	0,04 %	Grenze d. Ringprobe bei e. Verdünnung auf d. 4 fache d. Harnvol.	1020 (20° C.)	trüb bernstein-gelb	alkalisch

Harn IV. Ursprünglicher Kohlehydratgehalt: 0,06 %, fault bei gewöhnlicher Temperatur: offen.

	Kohlehydrat-gehalt.	Bemerkungen.	Specifisches Gewicht.	Farbe.	Reaction.
Nach 1 Tag	0,06 %	—	1017 (20° C.)	goldgelb	sauer
» 4 Tagen	0,05 %	—	1016	goldgelb	schwach sauer
» 8 »	0,1 %	Zu dem hohen Kohlehydratgehalt vergl. das im nachfolg. Text Gesagte	1017 (20° C.)	goldgelb	schwach sauer
» 18 »	0,045 %	Grenze d. Ringprobe b. e. Verdünn. d. Harns auf d. 5 fache s. Vol.	1018	trüb bernstein-gelb	alkalisch
» 21 »	0,045 %	Grenze der Ringprobe bei e. Verdünnung auf d. 5 fache d. Harnvol.	1018	trüb bernstein-gelb	alkalisch
» 30 »	0,02 %	Grenze der Ringprobe bei e. Verdünnung auf d. 5 fache d. Harnvol.	1019 (21° C.)	trüb bernstein-gelb	alkalisch

Ueberblicken wir diese Tabellen, so ergibt sich zunächst die Thatsache, dass der Kohlehydratgehalt verhältnissmässig sehr langsam abnimmt und dass diese Abnahme selbst bei langem Stehen resp. Faulen eines Harns nie eine ganz vollständige wird; wenigstens ist stets noch eine Furfurolreaction vorhanden. Auch Salkowski[1]) weist, wie Eingangs bemerkt, darauf hin, dass die Zersetzung der Kohlehydrate im faulenden Harn keine vollständige zu sein scheine, findet aber[2]), dass der in ammoniakalische Gährung übergegangene, sich selbst überlassene faulende Harn keine Furfurolreaction mehr gibt, wenn man die Prüfung mit 1 bis 2 Tropfen Harn vornimmt.

Trotzdem liefere solcher Harn nicht weniger Huminsubstanzen als der frische und gebe beim Erhitzen mit Schwefelsäure die Schiff'sche Furfurolreaction[3]) noch in ausgeprägter Weise: beides Erscheinungen, welche nach v. Udránszky auf die Anwesenheit von Kohlehydraten zu beziehen seien. — Ob diese einander widersprechenden Resultate durch die Art der Ausführung der in vielen Beziehungen subtilen Furfurolreaction mit α-Naphthol und Schwefelsäure bedingt wurden, wage ich nicht zu entscheiden.

Ganz auffallend erscheint die Beobachtung, dass in einem Harn, welcher bis dahin eine regelmässige Abnahme der Kohlehydrate hatte erkennen lassen, mit einem Mal ein steigender, ja fast so hoher Kohlehydratgehalt gefunden wird, wie zu Anfang der ganzen Untersuchung: so bei Harn IV, III und II. Als ich es bei Harn IV zum ersten Mal constatirte, glaubte ich zunächst, das sonderbare Ergebniss auf einen Fehler in der Untersuchungsmethode beziehen zu müssen. Es wurden alle Reagentien — auch das Wasser, mit welchem der Harn verdünnt worden war — auf ihre Reinheit, die Zuckerlösungen

---

[1]) L. c, S. 271.

[2]) L. c., S. 270.

[3]) Schiff'sche Furfurolreaction mit Xylidinacetat: Herstellung des Reagenspapieres, s. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 5, S. 378 und 388. Methode der Reaction: ibid., S. 382.

auf ihre Genauigkeit geprüft: es ergab sich stets wieder dasselbe Resultat.

Der Harn, welcher sonst unter den gleichen Bedingungen gestanden, zeigte keine Besonderheit in Farbe und Reaction. Da er aber einige Stunden vor der Untersuchung geschüttelt worden war, so dass die fast 1 cm. dicke Bodensatzschicht aufgewirbelt und die Partikelchen des Bodensatzes gleichmässig im Gesammtharn zur Zeit der Prüfung vertheilt gewesen waren, so lag es nahe, den Bodensatz einmal bezüglich seines Verhaltens bei der Furfurolreaction zu untersuchen. Da fand sich denn bei allen Harnen das bemerkenswerthe Ergebniss, dass thatsächlich der Bodensatz eine viel intensivere Furfurolreaction lieferte, als der sorgfältig filtrirte Harn. Um aber, soweit als möglich, Alles andere auszuschliessen, was etwa noch zu der Steigerung des Kohlehydratgehaltes beigetragen haben könnte, wurde auch noch festgestellt, dass beim Digeriren des zum Filtriren benutzten Filtrirpapieres mit Ammoniumcarbonat keine Substanzen mit in das Filtrat übergehen, welche eine Furfurolreaction geben. Wenn es also der Bodensatz allein war, der die Erhöhung des Kohlehydratgehaltes bewirkt hatte, so entsteht zunächst die Frage: welche Substanz in dem Bodensatz kann eine Furfurolreaction geben? Der Bodensatz eines eiweissfreien Harns, der lange Zeit sich selbst überlassen steht, wird vorwiegend von den ausgefallenen Erdphosphaten gebildet und den gleichzeitig mit niedergerissenen Bacterien. Gerade die Letzteren sind hier in Massen vorhanden und ist daher wohl die Annahme zulässig, dass wir es hier mit Producten der Bacterien zu thun haben, welche eine Furfurolreaction liefern (Eiweisssubstanzen, Cellulose?). Diese Annahme entbehrt freilich vorläufig einer erschöpfenden Begründung; denn die Zahl meiner Beobachtungen ist viel zu gering, auch die Art der angewandten Methode zu wenig einwurfsfrei, als für eine sichere Beweisführung erforderlich wäre.

Aus den Tabellen ersehen wir ferner, dass die Harne, welche bei Luftzutritt standen (Harn I und IV), rascher gefault sind als die anderen. Der Harn, welcher verschlossen

stand (Harn II), reagirte selbst nach 5 Wochen noch sauer (und erst in diesen letzten Tagen, wo die vorliegenden Untersuchungen abgeschlossen werden mussten, trat bei ihm eine neutrale Reaction ein). Bezüglich des Harnes III, welcher ebenfalls bei Luftabschluss gehalten wurde und doch — scheinbar im Widerspruch zum vorigen — vom 14.—17. VII., also in 3 Tagen, eine intensive Gährung einging (Umschlag der Reaction, Veränderung der Farbe, Abnahme des Kohlehydratgehaltes), sei erwähnt, dass er am 14. VII. eine kurze Zeit offen gestanden hatte. Thatsächlich genügt eine verhältnissmässig kurze Zeit, während welcher Luft und mit ihr zahlreiche Keime zu einem bis dahin geschlossenen Harn gelangen, um eine intensive Gährung anzuregen. So änderte eine Probe von Harn II — 150 cbcm. in einem weiten Messgefäss bei einer durchschnittlichen Temperatur von 22° C. offen hingestellt — innerhalb 30 Stunden Farbe und Reaction. Die rothgelbe Farbe ging dabei in die opakbernsteingelbe über, wie ich sie bei all' den faulenden Harnen beobachtete, die Reaction wurde alkalisch und der Kohlehydratgehalt sank von 0,06% auf 0,03%.

Endlich sei noch eine Versuchsreihe erwähnt, bei welcher der vom Luftzutritt abgeschlossene Harn dauernd einer Temperatur von 35° C. ausgesetzt war[1]). Die Ergebnisse der einzelnen Prüfungen seien hier kurz angeführt:

Harn V (eiweissfrei).

		Kohlehydratgehalt:
3. VII.:	Spec. Gew. (corr.): 1028 Farbe: rothgelb, Filtrat mässig getrübt Reaction: sauer	0,12%
4. u. 5. VII.:	Reaction: alkalisch; sonst wie am 3. VII.	0,06%
6. VII.:	wie am 4. VII.	0,04%
7. VII.:	wie seither	0,03%
8. VII.:	» »	0,03%
9. VII.:	» »	0,03%
11. VII.:	Spec. Gew. (corr.): 1032; sonst wie seither	0,034%

[1]) Herr Prof. Dr. Schottelius hatte die Güte, mir die Benutzung eines Brütofens im hygienischen Institut zu gesatten, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank sage.

Harn V (eiweissfrei).

	Kohlehydratgehalt:
13. VII.: Spec. Gew. (corr.): 1032	0,03 %
13. VII. bis 22. VII.: stets das gleiche Resultat.	
25. VII.: Spec. Gew. (corr.): 1032 Farbe: rothgelb, Filtrat mässig trüb Reaction: stark alkalisch	. . . 0,02 %

Danach scheint also die höhere Temperatur von Einfluss auf Intensität und Dauer der Gährung zu sein und den Eintritt zu beschleunigen[1]).

Wenn ich hiermit diese Untersuchungen abschliesse, so möchte ich noch einmal betonen, dass ich die Furfurolreaction mit α-Naphthol und Schwefelsäure bei Zucker- und normalen Harnen als eine gute Probe habe schätzen lernen, wenn es gilt, rasch eine Vorstellung von dem ungefähren Procentgehalt eines Harnes an Kohlehydraten zu gewinnen. Wohl ist man damit auch im Stande, sich rasch über den jeweiligen Kohlehydratgehalt eines in Gährung begriffenen Harnes Aufschluss zu verschaffen. Nur muss man sich in diesem letzteren Falle stets bewusst bleiben, dass eine Methode, welcher eine so empfindliche Reaction zu Grunde liegt, gerade darin einen gewissen Nachtheil hat, dass sich — selbst bei peinlichster Beachtung aller Vorschriften — Fehlerquellen nicht absolut ausschliessen lassen.

---

[1]) Vergl. Salkowski, l. c., S. 265.

Beiträge zur Kenntniss der Nucleine.

Von

Dr. Hans Malfatti.

(Aus dem Laboratorium für angew. med. Chemie der Universität Innsbruck.)

(Der Redaction zugegangen am 10. August 1891.)

Gelegentlich der Entscheidung der Frage, ob die Schleimsubstanz des Harnes den Mucinen oder den Nucleoalbuminen zuzuzählen sei, war ich genöthigt, mich mit der letzteren Klasse von Eiweisskörpern eingehender zu befassen. Besonders waren es die in letzter Zeit von Altmann[1]) aufgefundenen Nucleinsäuren, welche die Aufmerksamkeit in Anspruch nahmen. Die Entdeckung dieses Atomcomplexes, der einerseits als Spaltungsproduct, anderseits als Mittel zur Synthese der Nucleoalbumine, für diese Körperklasse charakteristisch ist, war nämlich im Stande, die von Liebermann[2]) aufgestellte und allerdings nicht widerspruchslos angenommene Auffassung der Nucleine, als Verbindungen von Eiweiss mit Metaphosphorsäure umzustossen; und dieses um so mehr, als in letzter Zeit Kossel[3]) zeigte, dass gerade dieser Complex es ist, der bei Behandlung mit Säuren die auch aus manchen natürlich vorkommenden Nucleinen erhältlichen Xanthinkörper liefert.

---

[1]) Altmann, Du Bois-Reymond's Archiv, Physiol. Abth., 1889, S. 514.

[2]) Liebermann, Ber. d. d. chem. Gesellsch., Bd. 21, S. 598.

[3]) Kossel, Du Bois-Reymond's Archiv, Physiol. Abth., 1891, S. 191.

Die Möglichkeit, aus den Nucleinen eine charakteristische Atomgruppe abzuspalten, gibt aber anderseits ein Mittel an die Hand zur Entscheidung der Frage, ob das Liebermann'sche Nuclein den in der Natur vorkommenden Nucleinen zuzurechnen, oder von ihnen zu trennen sei. Jedenfalls musste die aus Liebermann'schem Nuclein darstellbare Säure jener Klasse von Nucleinsäuren angehören, die aus den von Hoppe-Seyler als Nucleine der zweiten Gruppe bezeichneten abstammen, d. h. von jenen, die bei der Zersetzung keine Xanthinkörper liefern, und die Kossel darum unter dem Namen «Paranucleine» von den eigentlichen Nucleinen abgetrennt wissen will. Ferner kann diese Reaction (Abspaltung der Nucleinsäure) dazu dienen, um zu entscheiden, ob jene von Liebermann[1]) dargestellten Körper, in denen Eiweiss, Metaphosphorsäure und Xanthinbasen zu einem den Nucleinen der ersten Gruppe (Hoppe-Seyler) ähnlichen Complexe vereinigt sind, diesen letzteren thatsächlich zugehören oder nicht.

Diese Fragen habe ich durch Versuche zu entscheiden gesucht und glaube dieselben im bejahenden Sinne beantworten zu dürfen.

Als Ausgangsmaterial für diese Versuche diente ein möglichst phosphorreiches Liebermann'sches Nuclein. Ein solches erhält man am besten, wenn man eine sehr gehaltreiche Eiweiss- oder Acidalbuminlösung zu einer concentrirten Lösung einer vorher zu berechnenden Menge von Metaphosphorsäure unter Umschwenken rasch hinzugiesst. Ich löste gewöhnlich 25 gr. Eiweiss aus Blutserum in 1 Liter verdünnter Salzsäure von 3 ‰ Säuregehalt unter Erwärmen auf, und vermischte diese Lösung nach dem Filtriren in der oben beschriebenen Weise mit 6,5 gr. Metaphosphorsäure, mit einer Menge, die ausreicht, um für 25 gr. Eiweiss 10 % P zu liefern. Die so erhaltenen Fällungen hatten fast regelmässig einen Gehalt von etwa 6 % P.

---

[1]) Liebermann, Centralbl. f. d. med. Wissench., 1889, S. 210 und 225.

Es ist nämlich der P-Gehalt des Liebermann'schen Nucleins durchaus nicht ein constanter, wie das ja auch das ungemeine Schwanken der P-Werthe der natürlich vorkommenden Nucleine vermuthen lässt. Der entgegengesetzte Befund von Pohl[1]) dürfte wohl dadurch zu erklären sein, dass dieser bei der Darstellung seines zweiten Präparates, das nicht der wiederholten Einwirkung von Alkalien und Säuren unterworfen war und deswegen P-reicher als die übrigen Präparate hätte sein müssen, von vorneherein die fällende Metaphosphorsäure im Verhältniss zu den ersteren Versuchen in geringerer Menge zusetzte. Die Menge des zugesetzten Fällungsmittels hat nämlich einen ganz bedeutenden Einfluss auf den P-Gehalt des entstehenden künstlichen Nucleins; in welch' hohem Grade dies der Fall ist, möge folgender Versuch zeigen.

Eine Lösung von etwa 1 gr. Metaphosphorsäure in 300 cbcm. Wasser wurde fractionsweise mit kleinen Mengen einer verdünnten Lösung von reinem Serumalbumin versetzt; die jedesmal entstehenden geringfügigen Niederschläge wurden, sobald sie sich zu Boden gesetzt hatten, durch Decantiren von der Hauptmasse der Flüssigkeit getrennt, dann auf einem kleinen Filterchen gesammelt, einmal mit Wasser, dann mehrmals mit Alkohol gewaschen und der Phosphorsäurebestimmung zugeführt. Diese wurde, wie in den folgenden Versuchen, durch Titration mit essigsaurer Uranlösung ausgeführt. Die Art der Ausführung werde ich am Schlusse noch näher zu besprechen haben.

Die bei den eben erwähnten Versuchen gefundenen P-Werthe waren folgende:

Fraction		gr. Subst.	verbrauchten	cbcm. Uranlösung		= % P.
Fraction I	0,1705 gr. Subst.		verbrauchten	3,95 cbcm. Uranlösung		= 5,2% P.
» II	0,1535	»	»	3,25 »	»	= 4,8% »
» III	0,1040	»	»	2,1 »	»	= 4,3% »
» IV	0,1290	»	»	2,3 »	»	= 3,9% »

Nun wurde durch Zusatz von mehr Eiweisslösung der grösste Theil der Metaphosphorsäure entfernt, und darauf

[1]) Pohl, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 13, S. 292.

wiederum eine kleine Menge der erwähnten verdünnten Eiweisslösung zugefügt. Die jetzt erhaltene Fällung ergab:

Fraction V 0,0670 gr. Subst. verbrauchten 1,0 cbcm. Uranlösung = 2,5% P.

Da die Flüssigkeitsmenge schon eine bedeutendere und der Einfluss der Verdünnung schon zu gross geworden war, wurde der Versuch unterbrochen.

In einem anderen Versuche, bei dem ich eine grössere Menge einer verdünnten Syntoninlösung (aus Eiweiss durch concentrirte Salzsäure erhalten) mit Metaphosphorsäure gefällt hatte, und wo das Fällungsproduct 4,8% P[1]) enthielt, konnte ich durch weiteren Zusatz von Metaphosphorsäure zum klaren Filtrate einen Niederschlag erhalten von 6,1% P-Gehalt[2]).

Dass natürlich ausser der Menge des Fällungsmittels auch die Einwirkung des Wassers, der Säuren und Alkalien den P-Gehalt der Metaphosphorsäure-Verbindungen des Eiweisses und des Leims[3]) in hohem Maasse beeinflussen, ist bekannt. So wurde z. B. das eben erwähnte Präparat von 6,1% P-Gehalt durch 12maliges Aufschwemmen mit Wasser und darauffolgendes Decantiren der Flüssigkeit, auf einen P-Gehalt von 1,6%[4]) gebracht, was allerdings auf eine ausnahmsweise grosse Veränderlichkeit desselben schliessen lässt. Der P spaltet sich dabei in gebundener Form ab, ob als Nucleinsäure oder als Metaphosphorsäure ist unentschieden, doch ist das Letztere nach Liebermann's[5]) neueren Untersuchungen das Wahrscheinlichere.

Auch als dasselbe Präparat, welches zu dem oben erwähnten Versuche gedient hatte, in etwa 200 cbcm. Wasser

---

[1]) 0,146 gr. Subst. verbrauchten 3,15 cbcm. Uranlösung = 4,85% P.
0,2105 » » » 4,5 » » = 4,81% »

[2]) 0,1227 gr. Subst. verbrauchten 3,25 cbcm. Uranlösung = 5,96% P.
0,2085 » » » 5,75 » » = 6,2% »

[3]) A. Lorenz, Pflüger's Archiv, Bd. 47, S. 189.

[4]) 0,123 gr. Subst. verbrauchten 1,2 cbcm. Uranlösung = 1,79% P.
0,050 » » » 0,5 » » = 1,43% »

[5]) Liebermann, Pflüger's Archiv, Bd. 46, S. 155.

aufgeschwemmt und dann 5mal nach einander mit Hilfe von möglichst wenig Ammoniak gelöst und jedesmal gleich darauf wieder mit Essigsäure gefällt wurde, sank der P-Gehalt desselben ebenfalls auf 1,6 %[1]). Der P spaltete sich in diesem Falle in Form einer P-reichen, vielleicht der Nucleinsäure nahe stehenden Verbindung ab, denn aus dem ziemlich stark essigsäurehaltigen Filtrate — ich hatte bei den letzten Fällungen stark ansäuern müssen, damit noch ein Niederschlag entstanden war — schied sich nach dem Zusatz von Salzsäure nach längerem Stehen, ohne dass Alkohol zugefügt worden wäre, ein weisser Niederschlag mit 5,9 % P[2]) ab.

Ich konnte überhaupt mehrfach die Erfahrung machen, dass die P-reichen Nucleine schon durch die Einwirkung von viel geringeren Mengen vom Alkali — in diesem Falle z. B. schon durch öfteres Lösen in möglichst wenig Ammoniak — zur Abspaltung der Nucleinsäure oder ähnlicher Körper gebracht werden, als die P-armen Nucleine.

Nichtsdestoweniger hielt ich mich bei meinen Versuchen, aus der Metaphosphorsäure-Eiweiss-Verbindung eine Nucleinsäure darzustellen, stets an das von Altmann[3]) angegebene Verfahren. Das in Anwendung gebrachte Liebermann'sche Nuclein wurde mit der entsprechenden Menge von Natronlauge (1 : 30) durch 5 Minuten behandelt, die Lösung verdünnt, mit Salzsäure fast neutralisirt und mit verdünnter Essigsäure vorsichtig angesäuert. Dabei zeigte die Flüssigkeit eine stark saure Reaction, schon lange bevor noch ein Niederschlag entstand. Dieser Niederschlag, der gewöhnlich lichtbräunlich oder gelblich gefärbt, manchmal auch rein weiss ist, setzt sich, wenn genügend Essigsäure zugefügt wurde, rasch in Flocken ab; er enthält keinen oder nur sehr wenig Phosphor. Ich fand nämlich bei Präparaten, die von verschiedenen Operationen stammten, nur Spuren von P, d. h.

---

[1]) 0,1232 gr. Subst. verbrauchten 1,2 cbcm. Uranlösung = 1,71 % P.
0,1007 » » » 0,9 » » = 1,47 % »

[2]) 0,0825 gr. Subst. verbrauchten 2,3 cbcm. Uranlösung = 5,94 % P.

[3]) Altmann, l. c.

bei der P-Bestimmung brachten schon die ersten Tropfen der zur Titration verwendeten Uranlösung eine Braunfärbung der als Indicator dienenden Ferrocyankalium-Lösung hervor; die Grenze der erhaltenen P-Werthe nach oben schwankte und wuchs mit der Menge der zur Fällung verwendeten Essigsäure, weil durch einen Ueberschuss dieser Säure ein P-reicherer Körper mit gefällt wird.

Verwendet man zur Darstellung der künstlichen Nucleinsäure, aus Alkalialbuminat erhaltenes Liebermann'sches Nuclein, indem man am einfachsten zu einer Lösung von Eiweiss in Alkali von der entsprechenden Concentration die Metaphosphorsäure-Lösung giesst und dann in der beschriebenen Weise vorgeht, so ist der erwähnte Niederschlag eigenthümlich zäh, fast harzartig, und, wahrscheinlich weil man gewöhnlich viel Essigsäure zusetzen muss, um ihn zu erhalten, etwas P-reicher als der aus Acidalbumin erhaltene, nämlich 1—3% P-haltig. Auch ist bei Anwendung von Alkalialbuminat die überstehende Flüssigkeit häufig milchig trüb, und es ist nicht möglich, eine gute Nucleinsäure daraus zu erhalten; gelingt aber die Reaction dennoch, so ist die Ausbeute wenigstens dem Augenmasse nach eine beträchtlich bessere, als bei Anwendung von Eiweiss oder Acidalbumin. Der Sicherheit der Ausbeute wegen zog ich jedoch vor, bei meinen Versuchen Liebermann'sches Nuclein aus Syntonin mit Metaphosphorsäure gefällt zu verwenden.

Nachdem nun der oben erwähnte, durch Ansäuern des Reactionsproductes erhaltene P-arme Niederschlag abfiltrirt war, wurde das Filtrat mit kleinen Mengen von verdünnter Essigsäure versetzt und der jedesmal entstehende Niederschlag abfiltrirt; und da zeigte es sich nun, dass man zu jeder späteren Fällung mehr Essigsäure brauchte, damit noch ein Niederschlag entstünde, als zu dem vorhergehenden, und zugleich zeigten die späteren Fällungsproducte einen mit jeder Fraction steigenden P-Gehalt. Ich fand bei verschiedenen Operationen alle möglichen Werthe bis zu 9,5% P. Diese letzten P-reichen Niederschläge sind aber immer sehr spärlich und schliesslich bringt verdünnte Essigsäure gar keinen Nieder-

schlag mehr hervor, und nur mehr concentrirte Essigsäure ist noch manchmal im Stande, im Ueberschuss eine Fällung entstehen zu lassen; der eben erwähnte Werth 9,5 % P stammt von einer derartigen Fällung.

Alle diese nur durch einen Ueberschuss von Essigsäure hervorgebrachten Niederschläge unterscheiden sich in ihren Eigenschaften nicht sehr von der Altmann'schen Nucleinsäure; sie sind in ammoniakalischem Wasser leicht löslich und die Lösung zeigt bei genügend vorsichtiger Versuchsanordnung saure Reaction; durch Essigsäure werden sie nur in einem bestimmten Ueberschuss gefällt. Eine schwach essigsaure Lösung wird durch Alkohol in nicht unverhältnissmässig grosser Menge nicht gefällt, fällt aber ihrerseits Eiweisslösungen in ausgezeichneter Weise. Bemerkenswerth ist auch die leichte und vollständige Löslichkeit des Körpers in concentrirter Salpetersäure, und das Fehlen oder nnr schwache Auftreten der Millon'schen Reaction.

Wegen des wechselnden P-Gehaltes halte ich diese Körper für Gemische von Eiweisskörpern mit Nucleinsäure, obwohl es mir nicht gelang, durch Auflösen der Producte in Ammoniak und fractionirtes Fällen der Lösung mit Essigsäure sie in ihre Bestandtheile zu zerlegen. Der von dem letzterem Umstande begünstigten Annahme, es handle sich da um eigentliche Verbindungen, steht zwar auch nichts entgegen, da wir ja wissen, wie leicht der grosse Gruppencomplex, den wir Eiweissmolecül nennen, kleinere Atomgruppen aufnimmt oder abgibt, ohne dadurch seine charakteristischen Eigenschaften zu verlieren. Man könnte hierbei vielleicht an eine durch den Essigsäure-Ueberschuss bewirkte Bildung einer Anhydridform denken, wie solche bei manchen Farbstoffen, z. B. Eosinen, vorkommen, deren Farbstoffsäuren in selbst säurehaltigem Wasser zwar löslich sind, durch einen etwas grösseren Säure-Ueberschuss jedoch unter Bildung einer Anhydridform gefällt werden. Auch Miescher[1]) fordert eine ähnliche Einwirkung

[1]) Miescher, Verhandlungen d. naturforschenden Gesellsch. in Basel, Bd. 6, Heft 1.

der Säure, um ein ähnliches Verhalten des Spermanucleins zu erklären; und er spricht sich am selben Orte dahin aus, dass jede neue Combination von Nuclein, Alkali, Protamin, alkalischen Erden wieder ein Körper für sich sei, der.... vielleicht auch sonst seine eigenthümliche Molecülanordnung hat. In ähnlicher Weise mag auch jede der Combinationen von Nucleinsäure und Eiweiss, von denen ich oben sprach, als ein Körper für sich aufgefasst werden.

Ich erwähnte vorher, dass ich den eben besprochenen nucleinsäureartigen Körper in Fractionen aus der Reactionsflüssigkeit gefällt habe. Diese Vorsichtsmassregel erwies sich als nothwendig, denn als ich in einem Falle die ganze zur Fällung nothwendige Essigsäuremenge auf einmal zusetzte, fiel mit dem entstehenden Niederschlage des nucleinsäureartigen Körpers auch die gesammte eigentliche Nucleinsäure aus, und das Verfahren musste unter Anwendung der erwähnten Vorsicht und diesmal mit Erfolg wiederholt werden.

Die eigentliche Nucleinsäure, die zum Schluss in der ziemlich stark sauren Lösung verbleibt, wurde genau nach Altmann[1]) mit verdünnter Salzsäure als rein weisser Niederschlag oder auch nur als milchige Trübung gefällt und mit Alkohol zum Absitzen gebracht. In einem Falle habe ich aus 10 gr. trockenen Liebermann'schen Nucleins 0,5 gr. dieser rohen Nucleinsäure erhalten, doch dürfte diese gute Ausbeute zu den Ausnahmen gehören. Die Substanz zeigte alle von Altmann[2]) für die Nucleinsäure angegebenen Reactionen und erwies sich als äusserst P-reich, ich fand Werthe von 12,3—11,6% P[3]). Dabei gelang es mir aber nicht, den Körper schwefelfrei zu erhalten.

---

[1]) Altmann, l. c.

[2]) Altmann, l. c.

[3])

1. 0,0865 gr.	Subst.	verbrauchten	4,35 cbcm.	Uranlösung	= 11,3%	P.
2. 0,1180	»	»	6,00	»	= 11,44%	»
3. 0.1200	»	»	6,2	»	= 11,62%	»
4. 0,1210	»	»	6,2	»	= 11,53%	»

Die Analysen 3 und 4 stammen von demselben Präparate, die von 1 und 2 von je einem verschiedenen.

Die künstliche Nucleinsäure unterscheidet sich also von den Altmann'schen, aus natürlichen Nucleinen dargestellten Nucleinsäuren durch den hohen P-Gehalt und ferner durch eine grössere Veränderlichkeit in Bezug auf ihre Löslichkeitsverhältnisse, sie wird nämlich durch das Reinigungsverfahren — wiederholtes Lösen in Ammoniak, Fällen mit Salzsäure, Behandeln mit Alkohol und Aether, Trocknen u. s. f. — leicht vollständig oder theilweise in eine in Ammoniak weniger leicht lösliche und durch Essigsäure fällbare Modification übergeführt, die vielleicht dasselbe ist, wie der früher besprochene nucleinsäureartige Körper (S. 73).

Ein tiefer greifender Unterschied zwischen der künstlichen und den natürlichen Nucleinsäuren ist aber durch die Möglichkeit geboten, aus den letzteren Xanthinkörper abzuspalten, aus der ersten aber nicht. Wenn man möglichst reine oder auch noch mit Eiweiss verunreinigte künstliche Nucleinsäure mit Wasser verrührt, so entsteht, ebenso wie bei den Versuchen mit Hefenucleinsäure, eine sauer reagirende, trübe Flüssigkeit, welche dann beim Erhitzen, unter Abscheidung geronnener Flocken, klar, stärker sauer und phosphorsäurehaltig wird. Aber weder bei dieser Behandlung, noch beim anhaltenden Kochen mit verdünnten Mineralsäuren war es möglich, in dem Reactionsproduct mit Hilfe von ammoniakalischer Silberlösung eine xanthinähnliche Substanz nachzuweisen. Aus Hefenucleinsäure jedoch entsteht eine solche leicht, auch unter Anwendung viel kleinerer Substanzmengen, als ich sie zu meinen Versuchen an künstlicher Nucleinsäure in Arbeit nahm.

Es ist also die besprochene Nucleinsäure sicher nicht identisch mit jener aus Hefe, und insofern man die Nucleine als Verbindungen von Eiweiss mit Nucleinsäuren auffassen kann, also auch das Liebermann'sche Nuclein verschieden von dem Hefenuclein.

Nun hat aber Altmann[1]) aus dem Nuclein des Eidotters eine Nucleinsäure abgespalten, und mir gelang es, aus dem

[1]) Altmann, l. c.

Casein — es wurde sogenannter Topfen verwendet — in 2 Versuchen nach dem Altmann'schen Verfahren eine geringe Menge einer Substanz darzustellen, die in Ammoniak löslich, durch Essigsäure nicht, wohl aber durch Salzsäure fällbar war, in essigsäure Lösung Eiweiss reichlich fällte, und beim Zerlegen mit verdünnter Schwefelsäure in der Wärme, wie es nicht anders zu erwarten war, keine Spur eines Xanthinkörpers lieferte. Eine solche Substanz muss in Betracht ihrer Herkunft und Darstellungsweise sowohl, als auch ihrer Eigenschaften ebenso wie der von Altmann aus dem Eidotter erhaltene Körper zu den Nucleinsäuren — Paranucleinsäuren — gerechnet werden.

Zu diesen «Paranucleinsäuren» ist auch die beschriebene Nucleinsäure aus der Eiweissmetaphosphorsäure-Verbindung zu zählen, und das Liebermann'sche Nuclein stellt sich damit, durch die Möglichkeit der Abspaltung einer solchen Säure, in die gleiche Reihe mit den natürlich vorkommenden Paranucleinen.

Der Umstand aber, dass die letztgenannte Körperklasse überhaupt im Stande ist, bei der bekannten, verhältnissmässig einfachen Behandlung eine Nucleinsäure zu liefern, legte den Gedanken an eine grosse constitutionelle Aehnlichkeit dieser Körper mit den eigentlichen Nucleinen sehr nahe. Nur die Fähigkeit, bei der Zersetzung Xanthinkörper zu liefern, unterscheidet sowohl die ursprünglichen Körper, als auch die davon abgespalteten Säuren der Nucleinreihe, von denen der Paranucleinreihe.

Da nun aber Liebermann[1]) aus Eiweiss, Metaphosphorsäure und Xanthinkörpern eine Verbindung darstellte, die dem Hefenuclein in einigen ihrer Reactionen ähnlich war, also sich zum gewöhnlichen Liebermann'schen Nuclein verhielt wie ein echtes Nuclein zu einem Paranuclein, wollte ich den Versuch machen, wie sich ein solcher Körper zur Altmann'schen Reaction verhielte, um zu entscheiden, ob nur gemeinschaftliche Unlöslichkeit, oder aber eine innigere Bindung die beiden

[1]) Liebermann, l. c.

Körper zu einem Niederschlage vereinige. Kossel[1]) konnte bekanntlich aus Hefenucleinsäure Guanin und Adenin abscheiden. Ich benützte mir zu Gebote stehendes Guanin zu meinem Versuche. Dieses wurde in verdünnter Kalilauge gelöst und zu einer Aufschlämmung von Liebermann'schem Nuclein — aus Alkalialbuminat bereitet — gebracht und so viel Kalilauge zugefügt, dass die Mischung die entsprechende Verdünnung (1 : 30) erhielt. Dann ging ich in der schon beschriebenen Weise weiter vor. Die mit Essigsäure erhaltenen Niederschläge verhielten sich, wie schon beschrieben, und gaben nach dem Zerlegen mit Schwefelsäure in der Wärme eine Flüssigkeit, in welcher durch Ammoniak und Silberlösung keine oder nur Spuren von Xanthinkörpern nachgewiesen werden konnten. Nachdem die gerade besprochenen Niederschläge aus der nucleinsäurehaltigen Flüssigkeit entfernt waren, wurde letztere mit Salzsäure gefällt und die Hälfte des Volums Alkohol zugefügt. Eine Probe des Niederschlages löste sich bei Ammoniakzusatz klar auf und erst nach längerem Stehen in der Sonne hatte sich ein geringer Niederschlag, der aus Guanin bestand, am Boden des Gefässes abgesetzt.

Die übrigbleibende Menge der Nucleinsäure wurde auf einem Filter gesammelt, und für den Fall, dass etwa der Alkohol allenfalls vorhandenes Guanin gefällt hätte, öfters (4—5 Male) mit salzsäurehaltigem Wasser auf dem Filter gewaschen. Diese Waschwässer enthielten Metaphosphorsäure, sie waren im Stande, in Eiweisslösung einen Niederschlag hervorzubringen; jedoch mit Ammoniak und Silberlösung gaben sie selbst nach dem Eindampfen einer Probe nur eine leichte Trübung. Desto auffallender war es, dass der auf dem Filter verbleibende Niederschlag nach dem Zerlegen mit verdünnter Schwefelsäure in der Wärme eine Flüssigkeit lieferte, welche mit Ammoniak und Silberlösung eine dichte Fällung ergab. Diese Letztere wurde aus heisser Salpetersäure unter Harnstoffzusatz umkrystallisirt, und lieferte reichlich Krystalle von der Form gekrümmter, gewöhnlich zu Kugeln vereinigter Nädelchen, wie man sie auch aus dem Zersetzungsproducte

---

[1] L. c.

der Hefenucleinsäure durch die gleiche Behandlung und aus dem käuflichen Guanin erhalten kann.

Massgebend an diesem Versuche, den quantitativ zu verfolgen ich gegenwärtig durch äussere Umstände verhindert bin, ist der Umstand, dass jene durch Säuren bewirkten Fällungen, die nicht Nucleinsäure waren, kein Guanin enthielten, diese Letztere aber, der Schätzung nach, wohl die ganze anfänglich zugesetzte Menge.

Ein ähnlicher Versuch, mit Hypoxanthin angestellt, misslang. Wohl erhält man ein Endproduct, das mit Alkohol und dann mit Aether, wie es bei der Darstellung der gewöhnlichen Nucleinsäure üblich ist, gewaschen, nach dem Zerlegen mit Schwefelsäure etwas Hypoxanthin liefert; aber durch salzsäurehaltiges Wasser lässt sich dieser letztere Körper so rasch und vollständig aus dem Nucleinsäure-Niederschlage auswaschen, dass an eine, wenn auch lockere chemische Bindung der beiden Körper diesmal wohl nicht gedacht werden kann.

Der Versuch mit Guanin zeigt, dass wenigstens dieser eine Xanthinkörper mit dem Liebermann'schen Nuclein eine chemische Bindung eingehen kann, und dass diese Bindung an jenem Complex erfolgt, der später als Nucleinsäure abgespalten wird und als solcher charakteristisch für die echten Nucleine ist. Der Versuch zeigt aber auch mit Sicherheit, dass die «Paranucleine» nicht in einem Gegensatz stehen zu den Nucleinen, sondern dass Letztere durch den einfachen Hinzutritt des betreffenden Xanthinkörpers aus den Ersteren entstehen können. Ob eine einfache Addition oder eine Bindung unter Ersatz einer anderweitigen Atomgruppe vorliegt, muss unentschieden bleiben.

Die Annahme, dass die Xanthinkörper liefernden Nucleinsäuren durch den Hinzutritt der betreffenden Atomgruppen zu den gewöhnlichen Para-Nucleinsäuren entstünden, würde auch den hohen P-Gehalt der künstlichen Nucleinsäuren erklären. Während Altmann für seine Nucleinsäure aus Lachssperma 9,6% P fand, und sich aus den zweiten der von

Kossel[1]) gegebenen Formeln $C_{25}H_{36}N_9P_3O_{20}$, 10,6 % P, aus der Ersteren $C_{17}H_{26}N_6P_2O_{14}$ gar nur 6,2 % P berechnen, finden sich in meinen Präparaten, die noch schwefelhaltig, also vielleicht sogar noch verunreinigt sind, bis zu 11,6 % P.

Wenn man nun von dem einfachen oder dem verdoppelten Moleculargewicht von $C_{25}H_{36}N_9P_3O_{20}$ das Moleculargewicht des Guanins $C_5H_5N_5O$ abzieht und aus den jeweils bleibenden Resten den P-Gehalt berechnet, so ergeben sich die Zahlen 12,8 % P oder aber 11,6 % P. Wenn man dasselbe Rechnungsverfahren auf die von Miescher[2]) für das Spermanuclein von 9,6 % P-Gehalt aufgestellte Formel $C_{29}H_{49}N_9P_3O_{22}$ anwendet, so ergibt sich ein P-Werth von 11,38 %.

Bei den grossen Schwankungen in der Zusammensetzung der besprochenen Körper, haben solche Berechnungen keinerlei entscheidenden Werth, aber sie machen im Zusammenhalte mit den übrigen Thatsachen die Annahme sehr wahrscheinlich, dass die Verschiedenheiten des P-Gehaltes zwischen den Nucleinsäuren davon herrühren, dass das Molecül der Letzteren dem der Ersteren gleich, jedoch um einen Atomcomplex, ähnlich dem des Guanins, vergrössert ist.

Die Auffassung, dass die Xanthinkörper nur zufällige Beimengungen, Verunreinigungen der Nucleine darstellten, ist jedenfalls fallen zu lassen, anderseits ist aber die Ausscheidung jener Nucleine, die beim Behandeln mit Säuren keine Xanthinbasen liefern, aus der Gruppe der Nucleinkörper nicht gerechtfertigt.

Zum Schlusse liegt es mir ob, über die Art und Weise, wie ich die P-Bestimmungen zu machen pflegte, zu berichten. Da ich nämlich bei den im Vorhergehenden erwähnten Versuchen in die Lage kam, möglichst rasch und oft den P-Gehalt

[1]) Kossel, l. c.

[2]) Miescher: Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Basel, Bd. 6, Heft I (Maly's Berichte, Bd. 4, S. 337).

irgend welcher Verbindungen zu bestimmen, so wählte ich unter den zu Gebote stehenden Methoden die Titration, und zwar die mit Uranlösung aus. Diese Bestimmungsart bot noch den besonderen Vortheil, dass sie gestattete, mit sehr kleinen Substanzmengen zu arbeiten, man kann z. B. bei Vorproben, die in der Eprouvette gemacht werden, ganz leicht und rasch sich einen Ueberblick über die auftretenden Veränderungen des P-Gehaltes der betreffenden Substanz verschaffen. Durch die Anwendung kleiner Substanzmengen wird aber auch die Verbrennung der nucleinähnlichen Körper, um die es sich hier ja hauptsächlich handelte, wesentlich erleichtert. Mein Verfahren bei diesen Verbrennungen war folgendes:

Die Substanz wurde, wenn nur wenig davon zur Verfügung stand, und die beim Ablösen eines eiweissartigen Niederschlages vom Filter unausbleibliche Verunreinigung desselben mit Filterfasern einen Einfluss auf die Bestimmung fürchten liess, als Lösung in einem geeigneten Lösungsmittel — in den hier besprochenen Fällen verdünnte Ammoniakflüssigkeit — sonst aber in Pulverform in ein vorher gewogenes kleines Platinschälchen oder auch in einen Porzellantiegel gebracht, getrocknet und gewogen. Dabei zeigte sich häufig die Erscheinung, dass bei Einhaltung einer Temperatur von 100—110° das Gewicht der Substanz rasch sank, dann aber wieder stetig zu steigen begann, und nur durch Erhöhung der Temperatur bis zu 130° wieder zu den ursprünglichen oder noch niedrigeren Werthen gebracht werden konnte; dabei nahmen aber die Substanzen einen gelblich-grauen Farbton an. Ich pflegte daher im Anfang der Trocknung häufige Wägungen (auf 0,5 mgr. genau) anzustellen und den niedrigsten der gefundenen Werthe auszuwählen.

Die so zur Analyse fertige Substanz wurde mit einer Lösung von Kalium- und Natriumcarbonat von ungefähr bekanntem Gehalt übergossen, dann in grosser Entfernung über einer kleinen Flamme zum Trocknen gebracht und durch langsame Steigerung der Wärme verkohlt. Die kohlige Masse, deren Verbrennung sonst sehr grosse Schwierigkeiten bot,

wurde bei nicht zu hoher Temperatur durch Zusatz kleinster Mengen feingepulverten Salpeters verbrannt; man kann so bei einiger Uebung die gesammte Masse ohne Feuererscheinung und unter Verbrauch von nur äusserst geringen Mengen des salpetersauren Salzes einschmelzen. Den Zusatz der Lösung der kohlensauren Salze machte ich bei nucleinartigen Substanzen, um das überaus lästige sich Aufblähen der Kohle zu vermeiden oder zu verringern, besonders aber um die beim Glühen allenfalls mögliche Bildung von Pyrophosphaten zu verhüten. Die Schmelze wurde im Schälchen mit Wasser in der Wärme gelöst, die Lösung in ein Bechergläschen gebracht, und mit heissem Wasser nachgespült, bis die Menge der Flüssigkeit etwa 50 cbcm. betrug. Diese Flüssigkeit wurde nun mit Essigsäure ungefähr neutralisirt, mit 5 cbcm. der bekannten essigsauren Natronacetatlösung versetzt, und in gewöhnlicher Weise mit essigsaurer Uranlösung titrirt, wobei ich mich des Ferrocyankaliums als Indicator bediente. In wichtigen Fällen oder bei überstürzten Titrationen habe ich die Resultate der Titration durch die Wägung des entstehenden Niederschlages, nachdem derselbe gesammelt und geglüht war, bestätigt oder berichtigt.

Da es nun häufig vorkam, dass in Folge der geringen Menge der zu Gebote stehenden Substanz, oder ihrer Armuth an Phosphor, nur äusserst geringe P-Mengen zur Bestimmung gelangten, und darum der Verbrauch an Uranlösung ein sehr geringer war, bildete die gerade unter solchen Umständen bedeutende Inconstanz des Titers der Uranlösung eine nicht zu vernachlässigende Fehlerquelle. Da nun in der Haswell-schen[1]) Reductionstabelle auch für ganz geringen Verbrauch von Uranlösung die Titerwerthe nur von einem zum andern cbcm. angegeben sind, jedem cbcm. mehr oder weniger aber schon grosse Differenzen der Titerangabe entsprechen, die noch dazu nicht der Menge der verbrauchten cbcm. Uranlösung proportional sich ändern, suchte ich die so

---

[1]) Alexander E. Haswell, nach Fresenius' Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. 22, S. 91.

gebildeten Lücken durch Bestimmung des Titerwerthes der Uranlösung für deren Verbrauch von je 0,3 bis 0,4 cbcm. auszufüllen.

50 cbcm. der Phosphorsäurelösung, aus reinem umkrystallisirten Dinatriumphosphat bereitet, hinterliessen einen Glührückstand von 0,1835 gr., entsprechend 0,09796 gr. P_2O_5 oder 0,4277 gr. P. 50 cbcm. dieser Lösung gebrauchten zu ihrer Titrirung genau 19 cbcm. der essigsauren Uranlösung. Um nun den Wirkungswerth dieser letzteren Lösung für niedrige P-Werthe festzustellen, habe ich eine bestimmte Anzahl von cbcm. der Phosphorsäurelösung auf ungefähr 50 cbcm. (im markirten Becherglas) verdünnt, mit 5 cbcm. der essigsauren Natronacetatlösung versetzt und dann titrirt.

Der Zusatz von Natronacetat zu der zu titrirenden Flüssigkeit erwies sich bei den geringen Mengen des angewendeten phosphorsauren Salzes als nothwendig, obwohl mit essigsaurem Uran titrirt wurde, und keine freie Mineralsäure vorhanden war; denn als ich statt des Essigsäure-Natronacetatgemisches nur Essigsäure von 3% Säuregehalt zufügte, konnte ich keine richtige Titration ausführen. In Folge des mangelnden Salzgehaltes fällt nämlich der entstehende Niederschlag in einer besonderen, schleimigen Modification aus, die die Eigenschaft hat, sich mit einer Lösung von Ferrocyankalium bald braun zu färben. Darum erhält man bei der Titration einer sehr salzarmen Flüssigkeit, lange schon bevor alle Phosphorsäure verbraucht ist, bei der Probe mit Ferrocyankalium eine Braunfärbung, die allerdings etwas verspätet und in Form von Körnchen oder Flocken auftritt, aber immerhin im Stande ist, die eigentliche Endreaction vorzutäuschen oder aber zu verdecken. Die Angabe also, das essigsaure Natron könne bei Anwendung von essigsaurem Uran zur Titration weggelassen werden[1], kann sich nur auf die Bestimmung der Phosphorsäure in ohnehin salzhaltigen Flüssigkeiten, wie z. B. der Harn eine solche ist, beziehen.

Von den Titrationen mit weniger als 7 cbcm. der Phosphorsäurelösung, habe ich jede wenigstens 5 mal wiederholt und dabei dafür gesorgt, dass ich nie wusste, welche Phosphorsäuremenge ich eben in Arbeit hatte; doch wichen die Zahlen der abgelesenen cbcm. Uranlösung gewöhnlich um weniger als 0,1 cbcm. von einander ab. Abweichungen von 0,2 cbcm.

---

[1]) Cfr. Huppert u. Thomas: Anleitung zur Analyse des Harns, Wiesbaden 1890, S. 452.

gehörten zu den Seltenheiten. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen habe ich in folgender Tabelle zusammengestellt:

Anzahl der verbrauchten cbcm. Uranlösung.	Titerwerth der Uranlösung für 1 cbcm. berechnet auf P.	Differenz der P-Werthe.	Titerwerth der Uranlösung für 1 cbcm. berechnet für P_2O_5.	Differenz der P_2O_5-Werthe.
0,6	0,001426		0,003265	
		0,000285		0,000653
1,0	0,001171		0,003918	
		0,000263		0,000602
1,3	0,001974		0,004520	
		0,000039		0,000090
1,7	0,002013		0,004610	
		0,000054		0,000123
2,07	0,002067		0,004733	
		0,000072		0,000165
2,4	0,002139		0,004898	
		0,000029		0,000067
2,75	0,082168		0,004965	
		0,000061		0,000139
3,07	0,002229		0,005104	
		0,000022		0,000051
3,42	0,002251		0,005155	
		—		—
3,8	0,002251		0,005155	
19,0	0,002251	—	0,005155	—

Vorliegende Tabelle ist aus den Titrationsergebnissen der ersten 10 cbcm. der Phosphorsäurelösung von bekanntem Gehalt zusammengestellt. Es stellt sich heraus, dass schon bei Bestimmung von 9 cbcm. der Phosphorsäurelösung, entsprechend einem Verbrauch von 3,42 cbcm. der Uranlösung, der Titerwerth dieser letzteren genau der gleiche wird wie für den Verbrauch von 19 cbcm. Wenn ich zu der Titration mehr als 10 cbcm. der Phosphorsäurelösung verwendete, bis zu 25 cbcm., so schwankten die gefundenen Titerwerthe für die Uranlösung in engen Grenzen und vollständig regellos um die für 10 cbcm. gefundenen Zahlen, so dass die zufällig vollständige Uebereinstimmung der beiden untersten Ziffern der Tabelle als Ausdruck der Constanz des Titerwerthes für den Verbrauch von mehr als 3 cbcm. Uranlösung aufgefasst werden muss.

Ich gebrauchte daher in meinen Berechnungen in jedem Falle, wenn mehr als 3 cbcm. verbraucht worden waren, den Titerwerth 0,00225; für gefundene Werthe unter 3 cbcm. Uranlösung stellte ich mir durch einen aus der folgenden Tabelle leicht erkennbaren Vertheilungsmodus aus obiger Tabelle eine Zahlenreihe für die Titerwerthe für jeden 0,1 cbcm. Uranlösung her, und hielt mich in allen Fällen an diese.

Anzahl der verbrauchten cbcm.	Titerwerth für 1 cbcm. Uranlösung.	cbcm.	Titerwerth.	cbcm.	Titerwerth.
0,6	0,00143	1,1	0,00177	1,6	0,00201
0,7	0,00151	1,2	0,00183	1,7	0,00202
0,8	0,00158	1,3	0,00189	1,8	0,00203
0,9	0,00165	1,4	0,00194	1,9	0,00204
1,0	0,00171	1,5	0,00200	2,0	0,00205

Ferner setzte ich bis zum Verbrauch von 2,5 cbcm. den Titerwerth 0,00213 und bis zu 3,0 cbcm. den Werth 0,00222.

Wenn man die gegebene Tabelle mit der von Haswell[1]) vergleicht, so zeigt sich in beiden Tabellen das Ansteigen der Titerwerthe der Uranlösung bei steigendem Verbrauch derselben; jedoch ist in meinen Tabellen das Ansteigen ein viel rascheres, die Differenzen zwischen den einzelnen Zahlen sind anfänglich viel grösser, verringern sich aber ungemein viel schneller als bei Haswell[1]) und erreichen schon bei einem Verbrauch von 3 cbcm. Uranlösung den Werth 0, während dieser Werth bei Haswell erst bei einem Verbrauch von 19 cbcm., in der fortsetzenden Tabelle von Broockmann[2]) überhaupt gar nicht erreicht wird. Ich kann den Grund dieser Verschiedenheiten nicht angeben, vielleicht ist er in der verschiedenen Concentration der zur Anwendung kommenden Flüssigkeiten zu suchen.

---

[1]) Haswell, l. c.

[2]) Broockmann, Fresenius' Zeitschr. für analyt. Chemie, Bd. 22, S. 99.

Trotz der Schwierigkeiten und der kleinen Ungenauigkeiten, welche die besprochene Inconstanz des Titerwerthes der Uranlösung allenfalls mit sich bringen kann, ist die Sicherheit der Methode, für die hier in Frage kommenden Zwecke, eine vollständig ausreichende. Denn bei Verbrauch von wenig Uranlösung fällt ein durch eine mangelhafte Correctur gegebener kleiner Fehler nicht schwer in die Waagschale, und bei Verbrauch von grösseren Mengen von Uranlösung ist der Unterschied zwischen den corrigirten und nicht corrigirten Titerwerthen nur ein höchst geringer. Die kleinen Fehler, die durch diese Verhältnisse gegeben werden — sie betragen in ungünstigen Beispielen 0,1 % — werden durch die grössere Einfachheit des Arbeitens, durch welche Arbeitsfehler hintangehalten werden, reichlich ausgeglichen; desswegen und in Anbetracht ihrer übrigen Vortheile, kann ich die Titrirmethode für ähnliche Arbeiten, wie die hier vorgeführte, nur empfehlen.

Ueber die Gallenabsonderung bei vollständiger Inanition.

Von

S. M. Lukjanow.

Mit 2 lithographischen Tafeln.

(Der Redaction zugegangen am 16. August 1891.)

Seit Bidder's und Schmidt's klassischen Untersuchungen[1]) hat die Frage über die Gallenabsonderung bei vollständiger Inanition verhältnissmässig wenig die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gezogen. Zwar haben sich Einige auch später bemüht, die betreffenden Vorgänge zu ergründen, doch entsprach die Versuchsanordnung nicht immer dem Zwecke: bald war die Inanition keine vollständige, bald die Zahl der Versuche zu gering; bald wurde der Absonderungsprocess an Thieren mit permanenten Fisteln verfolgt, bald beschränkte man sich bei der Gallenanalyse auf die Bestimmung des festen Rückstandes allein, bald unterliess man es, das Gewicht der Leber mit in Betracht zu ziehen u. s. w.; geschweige denn, dass Manche auch gegenwärtig nicht anstehen, von der Gallenabsonderung nach dem Füllungsgrade der Gallenblase und nach anderen indirecten Merkmalen zu urtheilen.

Schon die Mängel der bisherigen Untersuchungen rechtfertigen es zur Genüge, wenn man weder Zeit noch Mühe spart, um neue analytische Daten in Bezug auf die Gallenabsonderung bei vollständiger Inanition zu ermitteln; hierzu gesellt sich noch die eigenartige Stellung der Leber im inter-

---

[1]) F. Bidder und C. Schmidt, Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel. Mitau und Leipzig, 1852.

mediären Stoffwechsel, welche allen Versuchen, die zur Klärung der verschiedenen Seiten der secretorischen Thätigkeit dieses Organs beitragen können, eine allgemeinere Bedeutung verleiht.

Meine Versuche habe ich an Meerschweinchen ausgeführt. Die Galle wurde durch temporäre Fisteln der Gallenblase gesammelt und zwar stets nach vorausgegangener Unterbindung des ductus choledochus. Die in der Blase stagnirende Galle wurde jedesmal gleich bei Anlegung der Fistel entfernt, so dass zur Untersuchung nur frisch abgesonderte Lebergalle kam. Zur Feststellung normaler Verhältnisse können 12 Versuche herangezogen werden, wovon 8 neue und 4 schon früher publicirte[1]). Was die hungernden Thiere betrifft, so beläuft sich ihre Zahl auf 24. Die hungernden Meerschweinchen waren derart gewählt, dass sich 4 Gruppen von je 6 Thieren mit mittlerem Gewichtsverluste von circa 5, 15, 25 und 35 % des ursprünglichen Körpergewichts ergaben. Die Lebensverhältnisse aller Versuchsthiere waren möglichst dieselben. Die Thiere kamen zur Verwendung erst, nachdem sie einige Tage im Laboratorium gefüttert wurden (Hafer, Schnittkohl, Brot, Wasser), worauf sie entweder zur Feststellung der Norm oder aber zum Hungerversuche (gänzliche Entziehung der festen Nahrung und des Wassers) dienten. Bei jedem Versuche fing ich die Galle während 3 Stunden in einstündigen Portionen, deren Grösse durch Gewicht festgestellt wurde, auf. Die weitere Untersuchung jeder Portion bestand in Bestimmung des festen Rückstandes, des Alkohol- und des Aetherextractes nach den üblichen Methoden. Die Analyse von 108 derartigen Gallenportionen gestattet mir eine tiefere Einsicht in die quantitativen und qualitativen Veränderungen, welche die Gallenabsonderung unter den genannten Bedingungen zu erleiden pflegt. Nach Beendigung des Versuchs wurde das Thier durch Decapitation getödtet und das Lebergewicht genau bestimmt. Selbstverständlich sind nur diejenigen Versuche als gelungen zu betrachten, wo sich die

---

[1]) S. M. Lukjanow, Ueber den Einfluss partieller Leberexcision auf die Gallenabsonderung. Virchow's Archiv, 1890, Bd. 120, Heft 3.

Leber als frei von zufälligen pathologischen Läsionen erweist. Die genannten 36 Thiere stellen eben ein derartiges vorwurfsfreies Material dar.

In vielen Fällen, und zwar in 28 Versuchen, wurde auch der Gehalt der Leber und des Blutes (aus den Halsgefässen) an Wasser und festen Stoffen geprüft.

Weitere Einzelheiten findet der Leser in den Versuchsprotocollen[1]. Da in Mittheilungen, wie die vorliegende, Zahlenwerthe viel beredter sind als Worte, begnüge ich mich mit diesen kurzen einleitenden Bemerkungen und gehe zur Wiedergabe des gesammten thatsächlichen Materials über. Die Versuche sind in 5 Gruppen zusammengestellt: die erste umfasst die normalen Thiere, die übrigen 4 beziehen sich auf Inanitionszustände.

I.

Versuche an normal gefütterten Thieren[2].

Versuch 1. — 16. X. 1889. Männchen. Körpergewicht — 295 gr. Lebergewicht — 13,258 gr. Relatives Lebergewicht — 4,49%. Gehalt an Wasser und festen Stoffen — in der Leber: 72,86—27,14%; im Blute: 78,80—21,20%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
No. der Portionen.	Zeit.	Gesammte Quantität der Galle in gr.	Wassergehalt in gr.	Fester Rückstand in gr.	Der in Alkohol unlösliche Theil des festen Rückstandes in gr.	Der in Alkohol lösliche Theil des festen Rückstandes in gr.	Der in Aether unlösliche Theil des trockenen Alkoholextractes in gr.	Der in Aether lösliche Theil des trockenen Alkoholextractes in gr.
1.	10.40--11.40	2,9345	2,89350	0,04100	0,02150	0,0195	0,01775	0,00175
2.	11.40—12.40	2,8975	2,86000	0,03750	0,01950	0,0180	0,01400	0,00400
3.	12.40— 1.40	2,6575	2,62525	0,03225	0,01575	0,0165	0,01350	0,00300
Summa	3 h.	8,4895	8,37875	0,11075	0,05675	0,0540	0,04525	0,00875
%	—	100	98,70	1,30	0,66	0,64	0,54	0,10

---

[1]) Vgl. auch die schon sub 2 citirte Mittheilung.

[2]) Die mit * bezeichneten Versuche sind meiner früheren Publication entnommen (vgl. sub 2). Ich führe sie zum Theil der Klarheit wegen an, zum Theil aber auch, um die Berechnungen, welche früher in extenso nicht angegeben zu sein brauchten, jetzt zu vervollständigen.

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 9,5925 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,1344 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1271 gr.

Versuch 2*. — 28. XII. 1888. Männchen. Körpergewicht — 367 gr. Lebergewicht — 10,900 gr. Relatives Lebergewicht — 2,97%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	1.45—2.45	2,89750	2,8480	0,04950	0,02475	0,02475	0,02025	0,0045
2.	2.45—3.45	2,76175	2,7215	0,04025	0,02375	0,01650	0,01250	0,0040
3.	3.45—4.45	2,48850	2,4520	0,03650	0,02150	0,01500	0,01150	0,0035
Summa	3 h.	8,14775	8,0215	0,12625	0,07000	0,05625	0,04425	0,0120
%	—	100	98,45	1,55	0,86	0,69	0,54	0,15

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 7,4003 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,4917 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0807 gr.

Versuch 3*. — 8. II. 1889. Männchen. Körpergewicht — 392 gr. Lebergewicht — 16,828 gr. Relatives Lebergewicht — 4,29%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.44—11.44	4,1835	4,1040	0,0795	0,0495	0,0300	0,02775	0,00225
2.	11.44—12.44	3,9675	3,9110	0,0565	0,0340	0,0225	0,02100	0,00150
3.	12.44— 1.44	3,4635	3,4215	0,0420	0,0310	0,0110	0,00875	0,00225
Summa	3 h.	11,6145	11,4365	0,1780	0,1145	0,0635	0,05750	0,00600
%	—	100	98,47	1,53	0,99	0,54	0,50	0,04

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 9,8763 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,3006 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1661 gr.

Versuch 4. — 31. I. 1890. Männchen. Körpergewicht — 442 gr. Lebergewicht — 14,976 gr. Relatives Lebergewicht — 3,39 %. Gehalt an Wasser und festen Stoffen — in der Leber: 73,90—26,10 %; im Blute: 77,51—22,49 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	11.9—12.9	4,4820	4,4210	0,0610	0,02425	0,03675	0,03225	0,0045
2.	12.9— 1.9	4,4690	4,4155	0,0535	0,02450	0,02900	0,02450	0,0045
3.	1.9 — 2.9	4,4995	4,4490	0,0505	0,02300	0,02750	0,02500	0,0025
Summa	3 h.	13,4505	13,2855	0,1650	0,07175	0,09325	0,08175	0,0115
%	—	100	98,77	1,23	0,53	0,70	0,61	0,09

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 10,1437 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,9938 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1520 gr.

Versuch 5. — 11. XI. 1889. Männchen. Körpergewicht — 443 gr. Lebergewicht — 17,225 gr. Relatives Lebergewicht — 3,89 %. Gehalt an Wasser und festen Stoffen — in der Leber: 72,77—27,23 %; im Blute: 78,64—21,36 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	11.5—12.5	4,9660	4,9025	0,0635	0,02775	0,03575	0,03375	0.0020
2.	12.5— 1.5	4,9920	4,9365	0,0555	0,02550	0,03000	0,02550	0,0045
3.	1.5— 2.5	4,8265	4,7730	0,0535	0,03050	0,02300	0,02050	0,0025
Summa	3 h.	14,7845	14,6120	0,1725	0,08375	0,08875	0,07975	0,0090
%	—	100	98,83	1,17	0,57	0,60	0,54	0,06

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 11,1246 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,8611 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1917 gr.

Versuch 6*. — 21. II. 1889. Weibchen. Körpergewicht — 467 gr. Lebergewicht — 20 gr. Relatives Lebergewicht

— 4,28 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	9.43—10.43	3,8020	3,7510	0,0510	0,02875	0,02225	0,01975	0,00250
2.	10.43—11.43	4,0355	3,9825	0,0530	0,03450	0,01850	0,01575	0,00275
3.	11.43—12.43	4,1475	4,0960	0,0515	0,03825	0,01325	0,01125	0,00200
Summa	3 h.	11,9850	11,8295	0,1555	0,10150	0,05400	0,04675	0,00725
%	—	100	98,70	1,30	0,85	0,45	0,39	0,06

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 8,5546 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,9975 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1710 gr.

Versuch 7. — 1. XII. 1889. Männchen. Körpergewicht — 495 gr. Lebergewicht — 14,008 gr. Relatives Lebergewicht — 2,83 %. Gehalt an Wasser und festen Stoffen — in der Leber: 72,69—27,31 %; im Blute: 77,54—22,46 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.9—11.9	4,9055	4,83900	0,06650	0,02600	0,0405	0,0370	0,0035
2.	11.9—12.9	4,5490	4,49125	0,05775	0,02675	0,0310	0,0290	0,0020
3.	12.9— 1.9	4,5575	4,50550	0,05200	0,02400	0,0280	0,0270	0,0010
Summa	3 h.	14,0120	13,83575	0,17625	0,07675	0,0995	0,0930	0.0065
%	—	100	98,74	1,26	0,55	0,71	0,66	0,05

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 9,4358 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 3,3343 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1322 gr.

Versuch 8. — 2. XI. 1889. Männchen. Körpergewicht — 513 gr. Lebergewicht — 15,519 gr. Relatives Lebergewicht — 3,03 %. Gehalt an Wasser und festen Stoffen — in der Leber: 71,83—28,17 %; im Blute: 77,77—22,23 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	12—1	2,89300	2,84750	0,04550	0,01750	0,02800	0,02550	0,00250
2.	1—2	2,32025	2,28350	0,03675	0,01500	0,02175	0,02000	0,00175
3.	2—3	2,10025	2,07100	0.02925	0,01375	0,01550	0,01350	0,00200
Summa	3 h.	7,31350	7,20200	0,11150	0,04625	0,06525	0,05900	0,00625
%	—	100	98,48	1,52	0,63	0,89	0,81	0,08

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 4,7520 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,5708 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0739 gr.

Versuch 9. — 15. V. 1890. Männchen. Körpergewicht — 538 gr. Lebergewicht — 19,670 gr. Relatives Lebergewicht — 3,66%. Gehalt an Wasser und festen Stoffen — in der Leber: 71,76—28,24%; im Blute: 77,26—22,74%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	11.57—12.57	7,081	6,9965	0,0845	0,0370	0,0475	0,0445	0,0030
2.	12.57— 1.57	6,543	6,4670	0,0760	0,0335	0,0425	0,0400	0,0025
3.	1.57— 2.57	6,716	6,6405	0,0755	0,0390	0,0365	0,0345	0,0020
Summa	3 h.	20,340	20,1040	0,2360	0,1095	0,1265	0,1190	0,0075
%	—	100	98,84	1,16	0,54	0,62	0,59	0,03

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 12,6022 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 3,4469 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,2481 gr.

Versuch 10. — 22. XI. 1889. Männchen. Körpergewicht — 539 gr. Lebergewicht — 15,509 gr. Relatives Lebergewicht — 2,88%. Gehalt an Wasser und festen Stoffen — in der Leber: 68,64—31,36%; im Blute: 79,09—20,91%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.23—11.23	4,2395	4,1785	0,0610	0,02225	0,03875	0,03475	0,00400
2.	11.23—12.23	3,5725	3,5270	0,0455	0,01650	0,02900	0,02400	0,00500
3.	12.23— 1.23	3,9480	3,9000	0,0480	0,02025	0,02775	0,02250	0,00525
Summa	3 h.	11,7600	11,6055	0,1545	0,05900	0,09550	0,08125	0,01425
%	—	100	98,69	1,31	0,50	0,81	0,69	0,12

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 7,2746 gr,; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,5276 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1129 gr.

Versuch 11. — 8. III. 1890. Männchen. Körpergewicht — 596 gr. Lebergewicht — 20,212 gr. Relatives Lebergewicht — 3,39%. Gehalt an Wasser und festen Stoffen — in der Leber: 71,22—28,78%; im Blute: 76,61—23,39%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.11—11.11	4,1685	4,1080	0,0605	0,01925	0,04125	0,03375	0,0075
2.	11.11—12.11	3,3015	3,2630	0,0385	0,01350	0,02500	0,01850	0,0065
3.	12.11— 1.11	5,8280	5,7615	0,0665	0,02600	0,04050	0,03650	0,0040
Summa	3 h.	13,2980	13,1325	0,1655	0,05875	0,10675	0,08875	0,0180
%	—	100	98,76	1,24	0,44	0,80	0,67	0,13

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 7,4374 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,1932 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1503 gr.

Versuch 12*. — 1. VI. 1889. Männchen. Körpergewicht — 749 gr. Lebergewicht — 19,412 gr. Relatives Lebergewicht — 2,59%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	11.19—12.19	10,66975	10,54400	0,12575	0,07025	0,0555	0,05325	0.00225
2.	12.19— 1.19	9,23025	9,11750	0,11275	0,06275	0,0500	0,04850	0,00150
3.	1.19— 2.19	10,24025	10,12275	0,11750	0,07750	0,0400	0,03825	0,00175
Summa	3 h.	30,14025	29,78425	0,35600	0,21050	0,1455	0,14000	0,00550
°/₀	—	100	98,82	1,18	0,70	0,48	0,46	0,02

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 13,4136 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 5,1755 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,2602 gr.

Auf Grund der angeführten Versuchsreihe können wir folgende Schlüsse in Betreff der Gallenabsonderung beim normalen Meerschweinchen formuliren:

1. Das mittlere Körpergewicht der Controlthiere (11 Männchen und 1 Weibchen) ist gleich 486,3 gr. Das mittlere absolute Lebergewicht — 16,460 gr. Dementsprechend ist das mittlere relative Lebergewicht, in °/₀ des Körpergewichts ausgedrückt, gleich 3,38 °/₀; es beträgt, mit anderen Worten, das Lebergewicht im Mittel $^1/_{29,5}$ des Körpergewichts. Die Schwankungen des relativen Lebergewichts sind im Allgemeinen ziemlich bedeutend: sein Maximum beläuft sich in der vorliegenden Gruppe von Versuchsthieren auf 4,49 °/₀, sein Minimum — auf 2,59 °/₀. Beachtenswerth ist dabei der Umstand, dass das maximale relative Lebergewicht sich beim Thiere mit minimalem Körpergewicht vorfand, und vice versa. Daraus darf jedoch keineswegs der Schluss gezogen werden, dass zwischen Körpergewicht und Lebergewicht eine sehr prägnante und beständige Abhängigkeit besteht. In dieser Hinsicht sind die Versuche 4 und 5, 9 und 10 besonders lehrreich: die Körpergewichte der paarweise geordneten Thiere sind beinahe identisch (442 und 443 gr., resp. 538 und 539 gr.), wogegen die relativen Lebergewichte grosse Unterschiede aufweisen (3,39 und 3,89 °/₀, resp. 3,66 und 2,88 °/₀). Beiläufig

sei noch bemerkt, dass die betreffenden Thiere gleichen Geschlechts waren (♂). Wir sehen also, dass selbst bei gleichem Körpergewicht und Geschlecht die Differenz im relativen Lebergewichte bis auf 22 % steigen kann.

2. Die Zusammensetzung des Lebergewebes in Bezug auf seinen Gehalt an Wasser und festen Stoffen wurde bei 8 Thieren bestimmt[1]). Im Mittel beträgt der Wassergehalt — 71,96 %, der Gehalt an festen Stoffen — 28,04 %. Der Zahlenwerth Q, resp. das Verhältniss des Wassers zum festen Rückstande, ist also gleich 2,57. Auch hier sind die individuellen Schwankungen ziemlich bedeutend: in maximo ist Q = 2,83 (Versuch 4), in minimo — 2,19 (Versuch 10). Ein bestimmtes Verhältniss zwischen der Zusammensetzung der Leber und ihrem relativen Gewichte liess sich nicht beobachten. Als Beispiel mögen hier die Versuche 4 und 11 dienen: bei einem und demselben relativen Gewichte der Leber (3,39 %) verhalten sich die entsprechenden Zahlenwerthe für Q wie 100 : 87,2: beide Thiere waren Männchen. Um die nachfolgenden Auseinandersetzungen klar zu machen, will ich noch hinzufügen, dass zwischen den Mittelwerthen für Q der Leber und Q der Galle (s. unten sub 10), unter normalen Bedingungen, folgendes Verhältniss besteht: $Q_h : Q_f = 2,57 : 77,74 = 0,033$. Dabei ist, selbstverständlich, Q_f nur auf Grund derjenigen Versuche berechnet, in welchen auch die Zusammensetzung der Leber in Betracht kam.

3. Der Gehalt an Wasser und festen Bestandtheilen im Blute[2]) wurde ebenfalls bei 8 Thieren bestimmt und zwar bei denselben, bei welchen auch die Zusammensetzung des Lebergewebes festgestellt worden ist. Im Mittel enthält das Blut gut gefütterter Meerschweinchen 77,89 % Wasser und 22,11 % feste Bestandtheile. Der Zahlenwerth für Q ergibt

---

[1]) Vgl. S. M. Lukjanow, Ueber den Gehalt der Organe und Gewebe an Wasser und festen Bestandtheilen bei hungernden und durstenden Tauben im Vergleich mit dem bezüglichen Gehalt bei normalen Tauben. Zeitschrift f. physiol. Chemie, 1889.

[2]) Vgl. die Angaben in der sub [1]) citirten Arbeit.

sich daraus = 3,52. In maximo beträgt das Verhältniss zwischen dem Gehalt an Wasser und demjenigen an festen Bestandtheilen 3,78 (Versuch 10), in minimo — 3,28 (Versuch 11). Ein Vergleich dieser Zahlenwerthe mit den entsprechenden Zahlen des vorausgegangenen § beweist, dass es keine directe, in jedem einzelnen Falle leicht demonstrirbare Beziehung zwischen der Leber- und Blutzusammensetzung vorhanden ist. Aus den Versuchen 4 und 5, resp. 9 und 10 ist auch nicht schwer zu ersehen, dass die Zusammensetzung des Blutes bei gleichem Körpergewicht und Geschlecht verschieden sein kann, trotz gleichen Lebensbedingungen der Versuchsthiere.

4. Um über die Energie der Gallenabsonderung ein Urtheil zu gewinnen, muss man vor Allem bestimmen, wie viel Galle pro Einheit der Zeit und des Körpergewichts secernirt wird. Bei entsprechender Bearbeitung der Ergebnisse sämmtlicher 12 Versuche finden wir, dass die mittlere Gallenmenge, welche stündlich pro 1 Kilo Körpergewicht secernirt wird, 9,3006 gr. beträgt. Halten wir einzelne Versuche gegen einander, so sehen wir ferner, dass die individuellen Schwankungen hier sehr bedeutend sein können. Es genügt, die Versuche 8 und 12 zu vergleichen: im ersteren Falle ist der betreffende Zahlenwerth, welchen wir kurz mit S bezeichnen wollen, = 4,7520 gr., im letzteren — 13,4136 gr. Mit anderen Worten: der maximale Zahlenwerth übertrifft den minimalen 2,82mal. Doch muss es eingestanden werden, dass derartige Schwankungen nicht besonders oft anzutreffen sind: in den meisten Fällen erhält man Werthe, welche den mittleren näher kommen. Wir haben also anzunehmen, dass die Energie der Gallenabsonderung in der That eine gewisse Function des Körpergewichts (P) ist.

5. Es kommt nun die Frage an die Reihe: wie gross ist die Gallenmenge, welche pro Einheit der Zeit und pro Einheit des Lebergewichts secernirt wird? Wenn wir die Gallenmenge, welche innerhalb 1 Stunde pro 10 gr. Lebergewicht abgesondert wird, mit s bezeichnen und die nöthigen Berechnungen ausführen, so finden wir, dass im Mittel

s = 2,7523 gr. ist. Ueber die Breite der individuellen Schwankungen geben uns die Versuche 12 und 8 hinreichenden Aufschluss: im ersteren ist s (max.) = 5,1755 gr., im letzteren s (min.) = 1,5708 gr. Das Verhältniss dieser beiden Zahlenwerthe ist wie 100 : 30,4. Mit anderen Worten: das Maximum übertrifft hier das Minimum 3,39 Mal. Wie gross diese Differenz auch ist, so wird sie uns doch keine Schwierigkeiten bereiten, da ja in den meisten Fällen die Schwankungen viel kleiner sind. Somit lässt es sich nicht leugnen, dass zwischen dem Lebergewicht und der Energie der Gallenabsonderung eine gewisse Abhängigkeit existirt, obgleich sie zuweilen durch diese oder jene Nebenumstände maskirt wird.

6. Da, dem Obigen gemäss, die secretorische Thätigkeit der Leber sowohl vom Körper- wie vom Lebergewicht abhängig ist, so wäre der genaueste Ausdruck für ihre Energie durch Berechnung der Secretmenge, welche pro Einheit der Zeit und pro Einheit des relativen Lebergewichts producirt wird, geliefert. Bezeichnen wir mit σ die Quantität Galle, welche pro Stunde und pro Einheit des relativen Lebergewichts abgesondert wird, und berechnen wir in entsprechender Weise die analytischen Zahlenwerthe, so erhalten wir im Mittel σ = 0,1555 gr.[1]). Das Maximum für σ = 0,2602 gr. (Versuch 12), das Minimum — 0,0739 gr. (Versuch 8). Verhältniss zwischen σ (max.) und σ (min.) = 100 : 28,4; der erste Zahlenwerth übertrifft also den letzteren 3,52 mal. Bezüglich dieser Zahlenwerthe kann das Gleiche gesagt werden, was auch früher über die individuellen Schwankungen bemerkt worden ist: es unterliegt keinem Zweifel, das derartige Differenzen nicht oft zu beobachten sind.

7. Jetzt wollen wir es versuchen, die Zahlenwerthe S, s und σ mit einander zu vergleichen. Der Uebersichtlichkeit

---

[1]) Es sei daran erinnert, dass $\sigma = {}^1/_{100} \frac{sn}{t}$ ist, wobei s die Secretmenge, welche während des Versuchs erhalten wird, t die Dauer des Versuchs und n das relative Gewicht des Organs ist. Selbstverständlich ist s in gr., t in Stunden und n in $^0/_0$ des Körpergewichts ausgedrückt. Das s dieser Formel soll nicht mit dem Zahlenwerthe s im § 5 verwechselt werden.

halber stellen wir die betreffenden Daten in folgender Tabelle zusammen:

No. des Versuchs.	S	s	σ
1.	9,5925	2,1344	0,1271
2.	7,4003	2,4917	0,0807
3.	9,8763	2,3006	0,1661
4.	10,1437	2,9938	0,1520
5.	11,1246	2,8611	0,1917
6.	8,5546	1,9975	0,1710
7.	9,4358	3,3343	0,1322
8.	4,7520	1,5708	0,0739
9.	12,6022	3,4469	0,2481
10.	7,2746	2,5276	0,1129
11.	7,4374	2,1931	0,1503
12.	13,4136	5,1755	0,2602
Im Mittel:	9,3006	2,7523	0,1555

Nach Berechnung der Differenz zwischen den einzelnen Werthen von S, s und σ und den Mittelwerthen bestimmen wir ferner das Mittel der Abweichungen in plus und in minus und drücken dieselben in % der Mittelwerthe aus. Dieses Verfahren zeigt uns, dass die Werthe der Reihe S im Mittel Schwankungen von (+) 17,0% und (—) 23,8%, diejenigen der Reihe s — von (+) 29,4% und (—) 21% und diejenigen der Reihe σ — von (+) 33,4% und (—) 23,9% aufweisen. Es sei noch bemerkt, dass in der Reihe S die Schwankungen in plus 7 mal und diejenigen in minus 5 mal vorkommen, während in den Reihen s und σ das Gegentheil davon stattfindet. Wir begehen also keinen Fehler, wenn wir annehmen, dass die Schwankungen nach beiden Richtungen hin gleich oft vorkommen und dass im Mittel der Umfang der Schwankungen in plus und in minus ca. 25% ausmacht.

8. Wie schon erwähnt, wurde in 8 Versuchen der Gehalt der Leber an Wasser und festen Stoffen bestimmt. Die Zusammenstellung der Zahlenwerthe Q_h mit S, s und σ führt jedoch zu keinen entscheidenden Ergebnissen. Nichtsdesto-

weniger dürfte es wohl bei einem grösseren Material gelingen, diese oder jene Gesetzmässigkeiten auch hier zu eruiren.

9. Die Zusammensetzung der von unseren Versuchsthieren secernirten Galle kann in folgenden Durchschnittszahlen ausgedrückt werden:

δ.	Wasser	98,69 %.
ε.	Fester Rückstand	1,31 %.
ζ.	Feste in Alkohol unlösliche Stoffe	0,65 %.
η.	Feste in Alkohol lösliche Stoffe	0,66 %.
ϑ.	Feste in Alkohol lösliche, in Aether unlösliche Stoffe	0,58 %.
ι.	Feste in Alkohol und Aether lösliche Stoffe	0,08 %.

Es ist also unter normalen Verhältnissen

$$\delta > \varepsilon > \eta > \zeta > \vartheta > \iota.$$

10. Auf Grund der oben angeführten Berechnungen könnte man verleitet sein, zu glauben, dass auch die Zusammensetzung der Galle grossen individuellen Schwankungen unterworfen ist. Ist es dem nun in der That so?

Das Verhältniss $\delta : \varepsilon$, resp. Q der Galle oder Q_f, ist = 75,3. Beim Durchsehen der Versuchsprotokolle finden wir, dass dieses Verhältniss in maximo bis auf 85,2 steigt, in minimo bis auf 63,5 sinkt (vgl. Versuche 9 und 2). Das heisst also, dass Q_f nach dem plus zu eine Abweichung, die 13,1 % beträgt, erfahren kann, und nach dem minus hin eine solche um 15,7 %. Es liegt auf der Hand, dass die mittlere Grösse der Schwankungen noch kleiner ist. Berechnungen wie im § 7 zeigen, dass die mittlere Abweichung in plus (9 Fälle) 6,1 % ausmacht, in minus aber (3 Fälle) — 14,7 %. Wir sehen demnach, dass die Schwankungen in der Zusammensetzung, sofern dieses das Verhältniss des Wassers zum festen Rücksande betrifft, bedeutend geringer sind, als in den Reihen S, s und σ.

11. Es wird auch nicht überflüssig sein, die Grenzen der Schwankungen für δ, ε, ζ, ϑ und ι zu bestimmen. Wir wollen uns dieses Mal mit der Berechnung der mittleren Abweichung in plus und in minus begnügen und lassen die maximalen und minimalen Werthe bei Seite. Die Berechnungen sind

hier in derselben Weise wie in §§ 7 und 10 ausgeführt worden.

Die nachfolgende Reihe gibt über den Gegenstand klare Auskunft:

δ.	+ 0,07 %;	— 0,22 %.
ε.	+ 16,8 %;	— 5,3 %.
ζ.	+ 24,9 %;	— 17,4 %.
η.	+ 16,2 %;	— 15,9 %.
ϑ.	+ 15,9 %;	— 14,7 %.
ι.	+ 50,0 %;	— 37,5 %.

Aus diesen Zahlenwerthen ist ersichtlich, dass die Schwankungen des Wassergehalts der Galle im Allgemeinen äusserst unbedeutend sind; am meisten sind die in Alkohol und Aether löslichen Substanzen Schwankungen unterworfen (ι : Fette, Lecithin, Cholesterin); die mittlere Stelle nehmen die festen Stoffe im Allgemeinen (ε), die gallensauren Salze (ϑ), die Gruppe η (gallensaure Salze, Fette, Lecithin, Cholesterin, Pigmente u. s. w.) und die Gruppe ζ (Schleim, Pigmente) ein.

12. Auf die 8 Versuche gestützt, in welchen ausser der Galle auch das Blut zur Analyse herangezogen wurde, können wir folgende Sätze über die Wechselbeziehungen zwischen der Gallen- und Blutconcentration aufstellen: bei Q des Blutes = 3,5, ist Q der Galle = 78,0, oder $Q_s : Q_f = 0{,}045$. Daraus folgt, dass das Verhältniss des Wassers zum festen Rückstande in der Galle 22,3 mal grösser ist, als im Blute. Beim Durchmustern der einzelnen Versuche finden wir übrigens kein directes und einfaches Verhältniss zwischen der Zusammensetzung des Blutes und derjenigen der Galle: es fiele z. B. schwer, zu behaupten, dass einen erhöhten Wassergehalt im Blute ein erhöhter Wassergehalt in der Galle stets begleitet. Freilich berücksichtigen wir hier nur diejenigen Schwankungen der Blutconcentration, welche unter normalen Bedingungen zur Beobachtung gelangen.

13. Wie aus dem Bisherigen hervorgeht, lieferte uns jeder Versuch drei stündliche Gallenportionen. Die Aufgabe wäre vereinfacht, hätten wir die ganze während des Versuches secernirte Gallenmenge auf einmal der Analyse unterworfen.

Ich habe jedoch den viel umständlicheren modus procedendi bevorzugt: ich that es, um einerseits über möglichst genaue Zahlenwerthe zu verfügen (es ist klar, dass die Analyse der ersten Portion durch diejenige der zweiten u. s. w. controlirt wird), andererseits um zu bestimmen, welche Veränderungen die Secretionsenergie mit der Zeit erfährt. Um den Vergleich mit hungernden Thieren zu erleichtern, habe ich auch hier die Mittelwerthe für die 1., 2. und 3. Stunde berechnet und zusammengestellt, wobei die erste Portion als 100 angenommen worden ist. Es ergab sich, dass die Secretionsenergie bei unseren normalen Meerschweinchen folgendermassen ausgedrückt werden kann:

100 — 91,99 — 96,94.

Tabelle

Mittelwerthe für die Gallenabsonderung

Nahrungsverhältnisse.	Gesammtzahl der Thiere.	Zahl der Männchen und der Weibchen.	Mittleres Körpergewicht in gr.	Mittleres Gewicht der Leber		Procentgehalt an Wasser und festen Stoffen			
				absol. in gr.	relat. in % des Körpergewichts.	im Blute.		in der Leber.	
Gut gefüttert.	12	11 ♂ und 1 ♀	486,3	16,460	3,38	77,89	22,11	71,96	28,04

Daraus folgt, dass im Mittel während der 2. Stunde am wenigsten abgesondert wird; ausserdem ist es auch ersichtlich, dass die Secretionsenergie im Allgemeinen nur unbedeutend sinkt.

14. Zum Schlusse dieser Uebersicht der normalen Daten erlaube ich mir eine zusammenfassende Tabelle zu geben (Tabelle A). Sie enthält die wichtigsten Mittelwerthe, welche die Bedingungen der Gallenabsonderung bei normalen Meerschweinchen bestimmen. Die sämmtlichen Zahlenwerthe wurden schon in den vorausgehenden §§ besprochen. Weitere Auseinandersetzungen werden beim Vergleich der normalen und hungernden Thiere nachfolgen.

A.

bei normalen Meerschweinchen.

Durchschnittsmenge der während 1 Stunde secernirten Galle in gr.			Zusammensetzung der Galle (in %):						Stündliche Schwankungen der Gallenabsonderung, in mittleren relativen Zahlenwerthen ausgedrückt:		
					Der in Alkohol unlösliche Theil des festen Rückstandes	Der in Alkohol lösliche Theil des festen Rückstandes	Der in Aether unlösliche Theil des trockenen Alkoholextractes	Der in Aether lösliche Theil des trockenen Alkoholextractes			
pro 1 Kilo Körpergewicht.	pro 10 gr. Lebergewicht.	pro Einheit des relativen Lebergewichts.	Wasser.	Feste Stoffe.	unlösliche	lösliche	unlösliche	lösliche	1. Stunde.	2. Stunde.	3. Stunde.
9,3006	2,7523	0,1555	98,69	1,31	0,65	0,66	0,58	0,08	100,0	91,99	96,94

II.

Versuche an hungernden und durstenden Thieren.

Erste Gruppe.

Versuch 13. — 18. IV. 1890. Männchen. Körpergewicht: initiales — 796 gr., terminales — 780 gr. Gewichtsverlust — 16 gr., resp. 2,01 %. Dauer der Hungerperiode — 2 St. 10 M. Lebergewicht — 21,670 gr. Relatives Lebergewicht — 2,78 %. Gehalt an Wasser und festen Stoffen — in der Leber: 70,56—29,44 %; im Blute: 79,62—20,38 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	12.33—1.33	6,1310	6,0520	0,0790	0,02975	0,04925	0,04725	0,00200
2.	1.33—2.33	5,5125	5,4485	0,0640	0,02550	0,03850	0,03675	0,00175
3.	2.33—3.33	5,4365	5,3750	0,0615	0,02550	0,03600	0,03400	0,00200
Summa	3 h.	17,0800	16,8755	0,2045	0,08075	0,12375	0,11800	0,00575
%	—	100	98,80	1,20	0,47	0,73	0,69	0,04

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 7,299 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,627 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1583 gr.

Versuch 14. — 7. III. 1890. Weibchen. Körpergewicht: initiales — 455 gr., terminales — 434 gr. Gewichtsverlust — 21 gr., resp. 4,62 %. Dauer der Hungerperiode — 14 St. 35 M. Lebergewicht — 15,138 gr. Relatives Lebergewicht — 3,49 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 72,68—27,32 %; im Blute: 77,77—22,23 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	11.20—12.20	4,1060	4,0445	0,0615	0,0200	0,0415	0,0365	0,005
2.	12.20— 1.20	4,3600	4,3070	0,0530	0,0250	0,0280	0,0240	0,004
3.	1.20— 2.20	4,1105	4,0640	0,0465	0,0185	0,0280	0,0240	0,004
Summa	3 h.	12,5765	12,4155	0,1610	0,0635	0,0975	0,0845	0,013
%	—	100	98,72	1,28	0,50	0,78	0,67	0,11

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 9,659 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,769 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1463 gr.

Versuch 15. — 28. IV. 1889. Männchen. Körpergewicht: initiales — 550 gr., terminales — 524 gr. Gewichtsverlust — 26 gr., resp. 4,73%. Dauer der Hungerperiode — 20 St. 40 M. Lebergewicht — 16,308 gr. Relatives Lebergewicht — 3,11%. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 71,50—28,50%; im Blute: 77,28—22,72%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.45—11.45	5,92125	5,83175	0,08950	0,04150	0,04800	0,04575	0,00225
2.	11.45—12.45	5,41750	5,34625	0,07125	0,03775	0,03350	0,03125	0,00225
3.	12.45— 1.45	5,04100	4,97850	0,06250	0,03075	0,03175	0,02825	0,00350
Summa	3 h.	16,37975	16,15650	0,22325	0,11000	0,11325	0,10525	0,00800
%	—	100	98,64	1,36	0,67	0,69	0,64	0,05

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 10,420 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 3,348 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1698 gr.

Versuch 16. — 12. IV. 1890. Männchen. Körpergewicht: initiales — 685 gr., terminales — 644 gr. Gewichtsverlust — 41 gr., resp. 6%. Dauer der Hungerperiode — 15 St. 5 M. Lebergewicht — 21,903 gr. Relatives Lebergewicht — 3,34%. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 71,65—28,35%; im Blute: 76,10—23,90%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	3.10—4.10	8,4725	8,3595	0,1130	0,0390	0,0740	0,0720	0,0020
2.	4.10—5.10	6,7095	6,6340	0,0755	0,0330	0,0425	0,0410	0,0015
3	5.10—6.10	6,3310	6,2605	0,0705	0,0355	0,0350	0,0330	0,0020
Summa	3 h.	21,5130	21,2540	0,2590	0,1075	0,1515	0,1460	0,0055
%	—	100	98,80	1,20	0,50	0,70	0,68	0,02

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 10,948 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 3,274 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,2395 gr.

Versuch 17. — 2. V. 1890. Männchen. Körpergewicht: initiales — 454 gr., terminales — 420 gr. Gewichtsverlust

— 34 gr., resp. 7,49 %. Dauer der Hungerperiode — 24 St. 20 M. Lebergewicht — 11,405 gr. Relatives Lebergewicht — 2,72 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 70,89—29,11 %; im Blute: 77,97—22,03 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	2.55—3.55	3,8085	3,75850	0,05000	0.01850	0,0315	0,03050	0,00100
2.	3.55—4.55	3,4285	3,38875	0.03975	0,01275	0,0270	0,02450	0,00250
3.	4.55—5.55	3,4480	3,41000	0,03800	0,01250	0,0255	0,02425	0,00125
Summa	3 h.	10,6850	10,55725	0,12775	0,04375	0,0840	0,07925	0,00475
%	—	100	98,80	1,20	0,41	0,79	0,74	0,05

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 8,481 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 3,123 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0969 gr.

Versuch 18. — 28. VI. 1890. Männchen. Körpergewicht: initiales — 527 gr., terminales — 473 gr. Gewichtsverlust — 54 gr., resp. 10,25 %. Dauer der Hungerperiode — 40 St. 25 M. Lebergewicht — 12,843 gr. Relatives Lebergewicht — 2,72 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 71,35—28,65 %; im Blute: 76,88—23,12 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	9.30—10.30	5,367	5,2870	0,0800	0,0255	0,0545	0,05275	0,00175
2.	10.30—11.30	4,736	4,6765	0,0595	0,0240	0,0355	0,03425	0,00125
3.	11.30—12.30	4,381	4,3285	0,0525	0,0230	0,0295	0,02825	0,00125
Summa	3 h.	14,484	14,2920	0,1920	0,0725	0,1195	0,11525	0,00425
%	—	100	98,67	1,33	0,50	0,83	0,80	0,03

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 10,207 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 3,759 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1313 gr.

Das eingehendere Studium der ersten Gruppe unserer Versuche an hungernden und durstenden Thieren führt uns zu folgenden Schlüssen:

1. Bei Zusammenstellung der Mittelwerthe des initialen (= 577,8 gr.) und des terminalen (= 545,8 gr.) Körpergewichts finden wir, dass der mittlere Gewichtsverlust in dieser Gruppe (5 Männchen und 1 Weibchen) 32 gr., resp. 5,53 % beträgt. Die mittlere Dauer des Hungerns — 19 St. 32 Min. Daraus folgt, dass in den Anfangsphasen der vollständigen Inanition ein 1 %iger Gewichtsverlust im Mittel ein 3 St. 32 Min. langes Hungern voraussetzt. Uebrigens ist es zu beachten, dass in jedem einzelnen Falle grosse Abweichungen vorkommen können, die durch ungleichmässige Urin- und Kothausscheidung bedingt werden.

2. Das mittlere absolute Lebergewicht der hungernden Thiere der 1. Gruppe ist = 16,545 gr. Das Verhältniss dieses Gewichts zum terminalen Körpergewichte = 3,03 %. Bei mittlerem Verluste des Körpergewichts von 5,53 % beträgt also das Lebergewicht im Mittel $^1/_{33}$ des Körpergewichtes. Von den individuellen Schwankungen werden wir des Näheren nicht sprechen: solche sind zweifelsohne vorhanden, sie sind aber nicht genau zu bestimmen, da dem Gesagten gemäss in den einzelnen Versuchen ungleiche Gewichtsverluste gewählt wurden. Diese Bemerkung gilt auch für alle anderen Schlüsse, welche die Bestimmung der Mittelwerthe, nicht aber diejenige der Grenzen der individuellen Schwankungen bezwecken.

3. Der Gehalt der Leber an Wasser und festen Stoffen wurde in allen 6 Versuchen dieser Gruppe festgestellt. Berechnet man die Mittelwerthe, so zeigt es sich, dass bei einem mittleren Gewichtsverluste von 5,53 % der Wassergehalt der Leber 71,44 %, der Gehalt an festen Stoffen 28,56 % beträgt. Der Werth Q_h ist also = 2,50.

4. Die Zusammensetzung des Blutes ist auch bei allen 6 Thieren untersucht worden. Im Mittel beträgt der Wassergehalt des Blutes 77,60 %, derjenige an festen Bestandtheilen — 22,40 %. Q_s ist also = 3,46.

5. Ueber die Energie der Gallenabsonderung urtheilen wir bei den Versuchen an hungernden Thieren ebenfalls nach den Gallenmengen, welche pro Stunde und pro Kilo Körpergewicht, pro Stunde und pro 10 gr. Lebergewicht, pro

Stunde und **pro** Einheit des relativen Lebergewichts secernirt werden, d. h. nach den Zahlenwerthen S, s und σ.

Entsprechende Berechnungen zeigen, dass bei mittlerem Gewichtsverluste von 5,53 % S = 9,5023 gr. ist.

6. s ist unter denselben Bedingungen = 3,1500 gr.

7. Der Werth σ, welchem wir die grösste Bedeutung zumessen, ist in der 1. Gruppe von hungernden Thieren = 0,1570 gr. — Selbstverständlich sind alle diese Werthe für S, s und σ — Mittelwerthe.

8. Die Zusammensetzung der Galle — im Mittel aus den 6 ersten Versuchen an hungernden Meerschweinchen — kann folgendermassen ausgedrückt werden:

δ.	Wasser	98,74 %.
ε.	Fester Rückstand	1,26 %.
ζ.	Feste in Alkohol unlösliche Stoffe	0,51 %.
η.	Feste in Alkohol lösliche Stoffe	0,75 %.
ϑ.	Feste in Alkohol lösliche, in Aether unlösliche Stoffe	0,70 %.
ι.	Feste in Alkohol und in Aether lösliche Stoffe	0,05 %.

Es ist also unter den genannten Bedingungen

$$\delta > \varepsilon > \eta > \vartheta > \zeta > \iota.$$

Das Verhältniss $\delta : \varepsilon$ ist im Mittel = 78,4.

Tabell…

Mittelwerthe für die Gallenabsonderung bei den Meerschweinche… verlor…

Nahrungsverhältnisse.	Gesammtzahl der Thiere.	Zahl der Männchen und der Weibchen.	Mittleres Körpergewicht in gr.		Mittlerer Gewichtsverlust		Mittlere Dauer der Hungerperiode in Stund. und Min.	Mittleres Lebergewicht		Procentgehalt an Wasser und an festen Stoffen			
			initiales.	terminales.	absol. in gr.	relat. in % des initial. Körpergewichts.		absol. in gr.	relat. in % des entspr. Körpergewichts.	im Blute.		in der Leb…	
Vollst. Inanition	6	5 ♂ + 1 ♀	577,8	545,8	32	5,53	19 St. 32 Min.	16,545	3,03	77,60	22,40	71,44	[illegible]

9. Da in dieser Versuchsgruppe Q der Leber = 2,50 und Q der Galle (d. h. $\delta : \varepsilon$) = 78,4 ist, so finden wir — $Q_h : Q_f = 2{,}50 : 78{,}4 = 0{,}032$.

10. Aus der Zusammenstellung von Q des Blutes und Q der Galle ersieht man, dass diese Werthe sich wie 3,46 : 78,4 = 0,044 : 1 verhalten. Das Verhältnits des Wassers zum festen Rückstande ist also in der Galle 22,7 mal grösser als im Blute.

11. Die Berechnung der Schwankungen der Secretionsenergie, je nach den Stunden des Versuchs, ergibt für die 1. Gruppe hungernder Thiere folgende Reihe von relativen Werthen: 100 — 89,23 — 85,04.

Daraus erhellt, dass während der 2. Stunde die Secretionsenergie bedeutend schwächer ist, als während der 1.; die 3. Stunde, welche die letzte Stelle einnimmt, unterscheidet sich übrigens nicht allzu bedeutend von der 2.

12. Der Anschaulichkeit halber wollen wir auch dieses Mal eine zusammenfassende Tabelle (B) geben, welche aus Mittelwerthen besteht, die die Secretionsbedingungen während der ersten Hungerphase bestimmen.

B.

die in Folge vollständiger Inanition 2,01 %—10,25 % Körpergewicht haben.

Durchschnittsmenge der während 1 Stunde secernirten Galle in gr.			Zusammensetzung der Galle (in %):						Stündliche Schwankungen der Gallenabsonderung, in mittleren relativen Zahlenwerthen ausgedrückt:		
pro 1 Kilo Körpergewicht.	pro 10 gr. Lebergewicht.	pro Einheit des relativen Lebergewichts.	Wasser.	Feste Stoffe.	Der in Alkohol unlösliche Theil des festen Rückstandes.	Der in Alkohol lösliche Theil des festen Rückstandes.	Der in Aether unlösliche Theil des trockenen Alkoholextractes.	Der in Aether lösliche Theil des trockenen Alkoholextractes.	1. Stunde.	2. Stunde.	3. Stunde.
9,5023	3,1500	0,1570	98,74	1,26	0,51	0,75	0,70	0,05	100	89,23	85,04

Zweite Gruppe.

Versuch 19. — 6. VII. 1890. Männchen. Körpergewicht: initiales — 468 gr., terminales — 412 gr. Gewichtsverlust — 56 gr., resp. 11,97%. Dauer der Hungerperiode — 45 St. 23 Min. Lebergewicht — 12,178 gr. Relatives Lebergewicht — 2,96%. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 70,83—29,17%; im Blute: 76,37—23,63%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	8—9	3,7230	3,66525	0,05775	0,01900	0,03875	0,03575	0,00300
2.	9—10	3,3385	3,29450	0,04400	0,01450	0,02950	0,02800	0,00150
3.	10—11	3,3940	3,35250	0,04150	0,01850	0,02300	0,02125	0,00175
Summa	3 h.	10,4555	10,31225	0,14325	0,05200	0,09125	0,08500	0,00625
%	—	100	98,63	1,37	0,50	0,87	0,81	0,06

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 8,4592 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,8619 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1032 gr.

Versuch 20. — 6. V. 1889. Männchen. Körpergewicht: initiales — 601 gr., terminales — 517 gr. Gewichtsverlust — 84 gr., resp. 13,98%. Dauer der Hungerperiode — 72 St. 37 Min. Lebergewicht — 15,105 gr. Relatives Lebergewicht — 2,92%. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 71,60—28,40%; im Blute: 76,28—23,72%. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	11.15—12.15	4,53500	4,46950	0,06550	0,02825	0,03725	0,03400	0,00325
2.	12.15— 1.15	3,94475	3,89050	0,05425	0,02975	0,02450	0,02325	0,00125
3.	1.15— 2.15	3,75800	3,70675	0,05125	0,02650	0,02475	0,02325	0,00150
Summa	3 h.	12,23775	12,06675	0,17100	0,08450	0,08650	0,08050	0,00600
%	—	100	98,60	1,40	0,69	0,71	0,66	0,05

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 7,8903 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,6993 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1191 gr.

Versuch 21. — 19. IV. 1889. Männchen. Körpergewicht: initiales — 327 gr., terminales — 281 gr. Gewichtsverlust — 46 gr., resp. 14,07 %. Dauer der Hungerperiode — 46 St. 45 Min. Lebergewicht — 10,976 gr. Relatives Lebergewicht — 3,91 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 72,00—28,00 %; im Blute: 77,25—22,75 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	11.5—12.5	3,0960	3,04550	0,05050	0,02000	0,03050	0,02800	0,00250
2.	12.5— 1.5	2,6395	2,60400	0,03550	0,01575	0.01975	0,01800	0,00175
3.	1.5 - 2.5	2,2565	2,22375	0,03275	0,01625	0,01650	0,01550	0,00100
Summa	3 h.	7,9920	7,87325	0,11875	0,05200	0,06675	0,06150	0,00525
%	—	100	98,51	1,49	0,65	0,84	0,77	0,07

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 9,4804 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,4271 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1042 gr.

Versuch 22. — 14. XII. 1888. Weibchen. Körpergewicht: initiales — 401 gr., terminales — 335 gr. Gewichtsverlust — 66 gr., resp. 16,46 %. Dauer der Hungerperiode — 47 St. Lebergewicht — 14,087 gr. Relatives Lebergewicht — 4,21 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber und im Blute — wurde nicht festgestellt. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	11.6—12.6	2,72850	2,68000	0,0485	0,02275	0,02575	0,02375	0,0020
2.	12.6— 1.6	2,57200	2,53450	0,0375	0,02250	0,01500	0,01350	0,0015
3.	1.6— 2.6	2,32625	2,28925	0,0370	0,01900	0,01800	0,01650	0,0015
Summa	3 h.	7,62675	7,50375	0,1230	0,06425	0,05875	0,05375	0,0050
%	—	100	98,39	1,61	0,84	0,77	0,70	0.07

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 7,5890 gr.; pro 10 gr. Leber-

gewicht: 1,8047 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1070 gr.

Versuch 23. — 21. IV. 1889. Männchen. Körpergewicht: initiales — 565 gr., terminales — 462 gr. Gewichtsverlust — 103 gr., resp. 18,23 %. Dauer der Hungerperiode — 94 St. 20 Min. Lebergewicht — 15,247 gr. Relatives Lebergewicht — 3,30 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 68,34—31,66 %; im Blute: 75,38—24,62 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.37—11.37	3,35650	3,29025	0,06625	0,02675	0,0395	0,03650	0,00300
2.	11.37—12.37	3,30075	3,25500	0,04575	0,02525	0,0202	0,01875	0,00175
3.	12.37— 1.37	2,99550	2,95500	0,04050	0,01800	0,0225	0,01900	0,00350
Summa	3 h.	9,65275	9,50025	0,15250	0,07000	0,0825	0,07425	0,00825
%	—	100	98,42	1,58	0,73	0,85	0,77	0,08

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 6,9645 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,1103 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1062 gr.

Versuch 24. — 8. V. 1889. Männchen. Körpergewicht: initiales — 594 gr., terminales — 471 gr. Gewichtsverlust — 123 gr., resp. 20,71 %. Dauer der Hungerperiode — 119 St. 18 Min. Lebergewicht — 15,776 gr. Relatives Lebergewicht — 3,35 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 68,49—31,51 %; im Blute: 74,55—25,45 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.26—11.26	2,58175	2,53925	0,04250	0,02450	0,01800	0,01575	0,00225
2.	11.26—12.26	1,81050	1,78150	0,02900	0,01475	0,01425	0,01225	0,00200
3.	12.26— 1.26	2,59925	2,55400	0,04525	0,02550	0,01975	0,01825	0,00150
Summa	3 h.	6,99150	6,87475	0,11675	0,06475	0,05200	0,04625	0,00575
%	—	100	98,33	1,67	0,93	0,74	0,66	0,08

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 4,9480 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,4772 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0781 gr.

Die zweite Versuchsgruppe erlaubt es, folgende Sätze aufzustellen:

1. Das mittlere initiale Körpergewicht der Versuchsthiere dieser Gruppe (5 Männchen und 1 Weibchen) — 492,7 gr.; das mittlere Terminalgewicht — 413 gr. Mithin ist der mittlere Gewichtsverlust = 79,7 gr., resp. 16,18%. Die mittlere Dauer der Hungerperiode bei diesen Versuchen — 70 St. 54 Min. Ein Gewichtsverlust von 1% setzt also, auf Grund dieser Versuche, eine mittlere Hungerdauer von 4 St. 23 Min. voraus.

2. Das mittlere absolute Lebergewicht der hungernden Thiere der zweiten Gruppe beträgt 13,895 gr. In % des entsprechenden mittleren Körpergewichts ausgedrückt, macht dieses 3,36% aus. Hieraus folgt, dass bei einem mittleren Gewichtsverluste von 16,18%, die Leber im Mittel $^1/_{29,7}$ des Körpergewichts in Anspruch nimmt.

3. Die Zusammensetzung der Leber wurde in 5 Versuchen bestimmt. Im Mittel erwies sich der Gehalt an Wasser gleich 70,25%, derjenige an festen Bestandtheilen — 29,75%. Q_h ist demgemäss = 2,36.

4. Die Zusammensetzung des Blutes ist auch 5 mal geprüft worden. Hier war der Gehalt an Wasser = 75,97%, derjenige an festen Stoffen — 24,03%. Q_s ist also = 3,16.

5. Die mittlere Gallenmenge pro Stunde und pro 1 Kilo Körpergewicht (S) — 7,5552 gr.

6. Die mittlere Gallenmenge pro Stunde und pro 10 gr. Lebergewicht berechnet — 2,2301 gr. (s).

7. Die mittlere Gallenmenge pro Stunde und pro Einheit des relativen Lebergewichts — 0,1030 gr. (σ).

8. Die mittlere Zusammensetzung der Galle bei Thieren, welche im Mittel 16,18 % des Körpergewichts eingebüsst haben, ist wie nachsteht:

ϑ. Wasser . . . . 98,48 %.
ε. Feste Stoffe . . . . 1,52 %.
ζ. Feste in Alkohol unlösliche Stoffe . . . . . . 0,72 %.
η. Feste in Alkohol lösliche Stoffe . . . . 0,80 %.
ϑ. Feste in Alkohol lösliche, in Aether unlösliche Stoffe 0,73 %.
ι. Feste in Alkohol und in Aether lösliche Stoffe . . 0,07 %.

Wir sehen also, dass $\delta > \varepsilon > \eta > \vartheta > \zeta > \iota$ und dass $\delta : \varepsilon$ im Mittel = 64,8 ist.

9. Da Q der Galle im Mittel aus den Versuchen, in welchen die Zusammensetzung des Lebergewebes und des Blutes geprüft worden ist, gleich 65,7 ist, so haben wir für diese Versuchsreihe — $Q_h : Q_f = 2,36 : 65,7 = 0,036$.

10. Die gleiche Zusammenstellung von Q des Blutes und Q der Galle ergibt — $Q_s : O_f = 3,16 : 65,7 = 0,048$.

Tabelle

Mittelwerthe für die Gallenabsonderung bei den Meerschweinchen
verloren

Nahrungsverhältnisse.	Gesammtzahl der Thiere.	Zahl der Männchen und der Weibchen.	Mittleres Körpergewicht in gr.		Mittlerer Gewichtsverlust		Mittlere Dauer der Hungerperiode in Stund. und Min.	Mittleres Lebergewicht		Procentgehalt an Wasser und an festen Stoffen			
			initiales.	terminales.	absol. in gr.	relat. in % des initial. Körpergewichts.		absol. in gr.	relat. in % des entspr. Körpergewichts.	im Blute.		in der Leber.	
Vollständige Inanition	6	5 ♂ + 1 ♀	492,7	413	79,7	16,18	70 St. 54 Min.	13,895	3,36	75,97	24,03	70,25	29,75

Es erhellt daraus, dass bei Thieren, welche im Mittel 16,18 °/₀ ihres Körpergewichts verloren haben, das Verhältniss des Wassers zum festen Rückstande in der Galle 20,8 mal grösser ist als im Blute.

11. Die stündlichen Schwankungen in der Energie der Gallenabsonderung, auf dieselbe Weise berechnet, wie in den vorausgehenden Versuchsreihen, stellen sich folgendermassen dar:

100 — 87,94 — 86,56.

Die Secretionsenergie, welche in der zweiten Stunde ziemlich bedeutend sinkt, weist also später keine schroffen Veränderungen mehr auf.

12. Die Mittelwerthe für die Gallenabsonderung bei hungernden Thieren der zweiten Gruppe sind in der Tabelle C zusammengestellt, welche nach der Art der Tabelle B construirt ist.

C.

die in Folge vollständiger Inanition 11,97 °/₀—20,71 °/₀ Körpergewicht haben.

Durchschnittsmenge der während 1 Stunde secernirten Galle in gr.			Zusammensetzung der Galle (in °/₀):						Stündliche Schwankungen der Gallenabsonderung, in mittleren relativen Zahlenwerthen ausgedrückt:		
					Der in Alkohol unlösliche Theil des festen Rückstandes.	Der in Alkohol lösliche Theil des festen Rückstandes.	Der in Aether unlösliche Theil des trockenen Alkoholextractes.	Der in Aether lösliche Theil des trockenen Alkoholextractes.			
pro 1 Kilo Körpergewicht.	pro 10 gr. Lebergewicht.	pro Einheit des relativen Lebergewichts.	Wasser.	Feste Stoffe.	unlösliche	lösliche	unlösliche	lösliche	1. Stunde.	2. Stunde.	3. Stunde.
7,5552	2,2301	0,1030	98,48	1,52	0,72	0,80	0,73	0,07	100	87,94	86,56

Dritte Gruppe.

Versuch 25. — 20. IV. 1889. Männchen. Körpergewicht: initiales — 353 gr., terminales — 278 gr. Gewichtsverlust — 75 gr., resp. 21,25 %. Dauer der Hungerperiode — 70 St. 40 Min. Lebergewicht — 9,468 gr. Relatives Lebergewicht — 3,41 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 68,49—31,51 %; im Blute: 76,48—23,52 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.5—11.5	3,0335	2,9850	0,0485	0,02325	0,02525	0,02250	0,00275
2.	11.5—12.5	2,1380	2,1095	0,0285	0,01200	0.01650	0,01400	0,00250
3.	12.5—1.5	1,9935	1,9650	0,0285	0,01250	0,01600	0,01375	0,00225
Summa	3 h.	7,1650	7,0595	0,1055	0,04775	0,05775	0,05025	0,00750
%	—	100	98,53	1,47	0,67	0,80	0,70	0,10

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 8,5910 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,5225 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0814 gr.

Versuch 26. — 28. V. 1889. Männchen. Körpergewicht: initiales — 775 gr., terminales — 592 gr. Gewichtsverlust — 183 gr., resp. 23,61 %. Dauer der Hungerperiode — 214 St. 35 Min. Lebergewicht — 15,491 gr. Relatives Lebergewicht — 2,62 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 63,17—36,83 %; im Blute: 73,75—26,25 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	9.40—10.40	3,36300	3,29050	0,0725	0,0215	0,0510	0,0465	0,0045
2.	10.40—11.40	3,03800	2,98700	0,0510	0,0200	0,0310	0,0280	0,0030
3.	11.40—12.40	2,80575	2,76075	0,0450	0,0165	0,0285	0,0260	0,0025
Summa	3 h.	9,20675	9,03825	0,1685	0,0580	0,1105	0,1005	0,0100
%	—	100	98,17	1,83	0,63	1,20	1,09	0,11

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 5,1840 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,9811 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0804 gr.

Versuch 27. — 22. IV. 1889. Männchen. Körpergewicht: initiales — 622 gr., terminales — 473 gr. Gewichtsverlust — 149 gr., resp. 23,95 %. Dauer der Hungerperiode — 118 St. 30 Min. Lebergewicht — 13,591 gr. Relatives Lebergewicht — 2,87 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 71,40—28,60 %; im Blute: 75,61—24,39 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.48—11.48	2,85025	2,80100	0,04925	0,01950	0,02975	0,02725	0,00250
2.	11.48—12.48	2,42100	2,38550	0,03550	0,01625	0,01925	0,01825	0,00100
3.	12.48— 1.48	2,21750	2,18550	0,03200	0,01350	0,01850	0,01575	0,00275
Summa	3 h.	7,48875	7,37200	0,11675	0,04925	0,06750	0,06125	0,00625
%	—	100	98,44	1,56	0,66	0,90	0,82	0,08

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht; 5,2776 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,8367 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0716 gr.

Versuch 28. — 23. XII. 1888. Weibchen. Körpergewicht: initiales — 493 gr., terminales — 364 gr. Gewichtsverlust — 129 gr., resp. 26,17 %. Dauer der Hungerperiode — 96 St. 55 Min. Lebergewicht — 13,868 gr. Relatives Lebergewicht — 3,81 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber und im Blute — wurde in diesem Versuche nicht bestimmt. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	1.37—2.37	2,3980	2,35875	0,03925	0,01575	0,0235	0,02075	0,00275
2.	2.37—3.37	1,9545	1,92750	0,02700	0,01350	0,0135	0,01150	0,00200
3.	3.37—4.37	0,9005	0,88850	0,01200	0,00250	0,0095	0,00825	0,00125
Summa	3 h.	5,2530	5,17475	0,07825	0,03175	0,0465	0,04050	0,00600
%	—	100	98,51	1,49	0,60	0,89	0,77	0,12

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 4,8104 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,2626 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0667 gr.

Versuch 29. — 23. VI. 1890. Weibchen. Körpergewicht: initiales — 540 gr., terminales — 395 gr. Gewichtsverlust — 145 gr., resp. 26,85 %. Dauer der Hungerperiode — 71 St. 5 Min. Lebergewicht — 14,061 gr. Relatives Lebergewicht — 3,56 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 71,31—28,69 %; im Blute: 76,54—23,46 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	12.25—1.25	3,630	3,5775	0,0525	0,0170	0,0355	0,03375	0,00175
2.	1.25—2.25	3,868	3,8195	0,0485	0,0160	0,0325	0,03000	0,00250
3.	2.25—3.25	3,902	3,8560	0,0460	0,0175	0,0285	0,02750	0,00100
Summa	3 h.	11,400	11,2530	0,1470	0,0505	0,0965	0,09125	0,00525
%	—	100	98,71	1,29	0,44	0,85	0,80	0,05

Die Menge der binnen 1 Stunde secenirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 9,6203 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,7023 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1353 gr.

Versuch 30. — 29. IV. 1889. Männchen. Körpergewicht: initiales — 450 gr., terminales — 317 gr. Gewichtsverlust — 133 gr., resp. 29,56 %. Dauer der Hungerperiode — 116 St. 54 Min. Lebergewicht — 12,011 gr. Relatives Lebergewicht — 3,79 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen

— in der Leber: 70,89—29,11 %; im Blute: 74,83—25,17 %.
Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.20—11.20	4,15425	4,08725	0,06700	0,03150	0,03550	0,03375	0,00175
2.	11.20—12.20	3,71600	3,66150	0,05450	0,02625	0,02825	0,02575	0,00250
3.	12.20— 1.20	2,88775	2,84650	0,04125	0,02125	0,02000	0,01850	0,00150
Summa	3 h.	10,75800	10,59525	0,16275	0,07900	0,08375	0,07800	0,00575
%	—	100	98,49	1,51	0,73	0,78	0,72	0,06

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 11,3123 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 2,9856 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,1359 gr.

Die Ergebnisse dieser dritten Versuchsreihe führen uns zu folgenden Schlüssen:

1. Bei mittlerem Initialgewichte von 538,8 gr. und mittlerem Terminalgewichte von 403,2 gr. ist der mittlere Gewichtsverlust gleich 135,6 gr., resp. 25,17 %. Diesem Gewichtsverlust entspricht eine mittlere Hungerdauer von 114 St. 46 Min. Es bezieht sich also in der dritten Gruppe (4 Männchen und 2 Weibchen) ein Gewichtsverlust von 1 % auf eine mittlere Hungerdauer von 4 St. 34 Min.

2. Das mittlere absolute Lebergewicht in der dritten Gruppe ist gleich 13,082 gr., das mittlere relative Gewicht — 3,25 %. Es macht, mit anderen Worten, bei einem mittleren Gewichtsverluste von 25,17 % das Lebergewicht $^1/_{30,8}$ des Körpergewichts aus.

3. Die Zusammensetzung der Leber, welche in 5 Fällen bestimmt worden ist, kann folgendermassen ausgedrückt werden: Wasser — 69,05 %, feste Bestandtheile — 30,95 %. Selbsverständlich sind dieses Mittelwerthe. Das entsprechende Q_h ist = 2,23.

4. Für die mittlere Zusammensetzung des Blutes (ebenfalls 5mal geprüft) ergaben sich folgende Zahlenwerthe: Wasser — 75,44 %, feste Stoffe — 24,56 %. Demnach ist Q_s = 3,07.

5. Die mittlere Gallenmenge **pro** Stunde und **pro** Kilo Körpergewicht — 7,5259 gr. (S).

6. Die mittlere Gallenmenge **pro** Stunde und **pro** 10 gr. Lebergewicht — 2,2152 gr. (s).

7. Die mittlere Gallenmenge **pro** Stunde und **pro** Einheit des relativen Lebergewichts — 0,0952 gr. (σ).

8. Die mittlere Zusammensetzung der Galle, entsprechend einem Gewichtsverluste von 25,17 %, stellt sich folgendermassen dar:

δ.	Wasser	98,48 %.
ε.	Feste Bestandtheile	1,52 %.
ζ.	Feste in Alkohol unlösliche Stoffe	0,62 %.
η.	Feste in Alkohol lösliche Stoffe	0,90 %.
ϑ.	Feste in Alkohol lösliche, in Aether unlösliche Stoffe	0,82 %.
ι.	Feste in Alkohol und in Aether lösliche Stoffe	0,08 %.

Es ist also $\delta > \varepsilon > \eta > \vartheta > \zeta > \iota$. — Das Verhältniss $\delta : \varepsilon = 64{,}8$.

Tabelle

Mittelwerthe für die Gallenabsonderung bei Meerschweinchen, die verloren

Nahrungsverhältnisse.	Gesammtzahl der Thiere.	Zahl der Männchen und der Weibchen.	Mittleres Körpergewicht in gr.		Mittlerer Gewichtsverlust		Mittlere Dauer der Hungerperiode in Stund. und Min.	Mittleres Lebergewicht		Procentgehalt an Wasser und an festen Stoffen			
			initiales.	terminales.	absol. in gr.	relat. in % des initial. Körpergewichts.		absol. in gr.	relat. in % des entspr. Körpergewichts.	im Blute.		in der Leber.	
Vollständige Inanition	6	4♂ + 2♀	538,8	403,2	135,6	25,17	114 St. 46 Min.	13,082	3,25	75,44	24,56	69,05	30,95

9. Das mittlere Q der Galle, aus den erwähnten 5 Versuchen berechnet, ist gleich 64,4. Dementsprechend ist $Q_h : Q_f = 2{,}23 : 64{,}4 = 0{,}035$.

10. Desgleichen für Q des Blutes und Q der Galle — $Q_s : Q_f = 3{,}07 : 64{,}4 = 0{,}048$. Bei einem mittleren Gewichtsverluste von 25,17 % ist also das Verhältniss des Wassers zum festen Rückstande in der Galle 20,9 mal grösser als im Blute.

11. Die Schwankungen der Secretionsenergie den Stunden nach entsprechen im Mittel folgender Reihe:

100 — 88,20 — 75,70.

Die Energie der Gallenabsonderung sinkt also mit jeder Stunde bedeutend.

12. Die Mittelwerthe für die Gallensecretion bei den Thieren der dritten Gruppe sind in der nachfolgenden Tabelle D wiedergegeben.

D.

in Folge vollständiger Inanition 21,25 %—29,56 % Körpergewicht haben.

Durchschnittsmenge der während 1 Stunde secernirten Galle in gr.			Zusammensetzung der Galle (in %):						Stündliche Schwankungen der Gallenabsonderung, in mittleren relativen Zahlenwerthen ausgedrückt:		
pro 1 Kilo Körpergewicht.	pro 10 gr. Lebergewicht.	pro Einheit des relativen Lebergewichts.	Wasser.	Feste Stoffe.	Der in Alkohol unlösliche Theil des festen Rückstandes.	Der in Alkohol lösliche Theil des festen Rückstandes.	Der in Aether unlösliche Theil des trockenen Alkoholextractes.	Der in Aether lösliche Theil des trockenen Alkoholextractes.	1. Stunde.	2. Stunde.	3. Stunde.
7,5259	2,2152	0,0952	98,48	1,52	0,62	0,90	0,82	0,08	100	88,20	75,70

Vierte Gruppe.

Versuch 31. — 11. XI. 1888. Männchen. Körpergewicht: initiales — 378 gr., terminales — 257 gr. Gewichtsverlust — 121 gr., resp. 32,01 %. Dauer der Hungerperiode — 72 St. 35 Min. Lebergewicht 10,390 gr. Relatives Lebergewicht — 4,04 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber und im Blute — wurde nicht bestimmt. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.45—11.45	2,1385	2,1070	0,0315	0,00900	0,02250	0,02050	0,0020
2.	11.45—12.45	2,1415	2,1100	0,0315	0,01250	0,01900	0,01600	0,0030
3.	12.45— 1.45	1,7100	1,6850	0,0250	0,00775	0,01725	0,01475	0,0025
Summa	3 h.	5,9900	5,9020	0,0880	0,02925	0,05875	0,05125	0,0075
%	—	100	98,53	1.47	0,49	0,98	0,86	0,12

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 7,7693 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,9218 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0807 gr.

Versuch 32. — 26. XI. 1888. Weibchen. Körpergewicht: initiales — 343 gr., terminales — 233 gr. Gewichtsverlust — 110 gr., resp. 32,36 %. Dauer der Hungerperiode — 98 St. Lebergewicht — 11,640 gr. Relatives Lebergewicht — 5,00 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber und im Blute — wurde nicht bestimmt. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	12.43—1.43	1,7900	1,7620	0,0280	0,0070	0,021	0,0195	0,0015
2.	1.43—2.43	1,8115	1,7865	0.0250	0,0070	0,018	0,0155	0,0025
3.	2.43—3.43	1,6115	1,5900	0,0215	0,0055	0,016	0,0140	0,0020
Summa	3 h.	5,2130	5,1385	0,0745	0,0195	0,055	0,0490	0,0060
%	—	100	98,58	1,42	0,37	1,05	0,94	0,11

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 7,4579 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,4929 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0869 gr.

Versuch 33. — 1. VIII. 1890. Männchen. Körpergewicht: initiales — 473 gr., terminales — 315 gr. Gewichtsverlust — 158 gr., resp. 33,40 %. Dauer der Hungerperiode — 142 St. 40 Min. Lebergewicht — 9,556 gr. Relatives Lebergewicht — 3,03 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 72,18—27,82 %; im Blute: 75,90—24,10 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	11.45—12.45	1,7275	1,6985	0,0290	0,0110	0,0180	0,0150	0,003
2.	12.45— 1.45	1,7885	1,7620	0,0265	0,0070	0,0195	0,0165	0,003
3.	1.45— 2.45	1,6150	1,5910	0,0240	0,0065	0,0175	0,0145	0,003
Summa	3 h.	5,1310	5,0515	0,0795	0,0245	0,0550	0,0460	0,009
%	—	100	98,45	1,55	0,48	1,07	0,90	0,17

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 5,4295 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,7898 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0518 gr.

Versuch 34. — 19. VIII. 1890. Männchen. Körpergewicht: initiales — 497 gr., terminales — 322 gr. Gewichtsverlust — 175 gr., resp. 35,21 %. Dauer der Hungerperiode — 144 St. 25 Min. Lebergewicht — 10,617 gr. Relatives Lebergewicht — 3,30 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 73,08—26,92 %; im Blute: 74,24—25,76 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	12.2—1.2	1,0755	1,0515	0,0240	0,00700	0,01700	0,01525	0,00175
2.	1.2—2.2	0,8195	0,8040	0,0155	0,00325	0,01225	0,01025	0,00200
3.	2.2—3.2	0,5515	0,5415	0,0100	0,00175	0,00825	0,00650	0,00175
Summa	3 h.	2,4465	2,3970	0,0495	0,01200	0,03750	0,03200	0,00550
%	—	100	97,98	2,02	0,49	1,53	1,31	0,22

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 2,5326 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 0,7681 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0269 gr.

Versuch 35. — 2. VIII. 1890. Männchen. Körpergewicht: initiales — 540 gr., terminales — 349 gr. Gewichtsverlust — 191 gr., resp. 35,37 %. Dauer der Hungerperiode — 165 St. 17 Min. Lebergewicht — 11,094 gr. Relatives Lebergewicht — 3,18 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 72,28—27,72 %; im Blute: 75,33—24,67 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	10.19—11.19	2,0515	2,0090	0,0425	0,0100	0,0325	0,02825	0,00425
2.	11.19—12.19	1,7055	1,6740	0,0315	0,0050	0,0265	0,02300	0,00350
3.	12.19— 1.19	1,5225	1,4975	0,0250	0,0042	0,0208	0,01855	0,00225
Summa	3 h.	5,2795	5,1805	0.0990	0,0192	0,0798	0,06980	0,01000
%	—	100	98,12	1,88	0,36	1,52	1,32	0,20

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 5,0424 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,5863 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0560 gr.

Versuch 36. — 24. VIII. 1890. Männchen. Körpergewicht: initiales — 426 gr., terminales — 265 gr. Gewichtsverlust — 161 gr., resp. 37,79 %. Dauer der Hungerperiode — 164 St. 45 Min. Lebergewicht — 8,312 gr. Relatives Lebergewicht — 3,14 %. Gehalt an Wasser und an festen Stoffen — in der Leber: 71,76—28,24 %; im Blute: 75,34—24,66 %. Gewicht und Zusammensetzung der stündlichen Portionen:

α	β	γ	δ	ε	ζ	η	ϑ	ι
1.	9.44—10.44	1,6080	1,5750	0,0330	0,0045	0,0285	0,0255	0,0030
2.	10.44—11.44	1,3450	1,3235	0,0215	0,0025	0,0190	0,0155	0,0035
3.	11.44—12.44	1,1855	1,1690	0,0165	0,0015	0,0150	0,0125	0,0025
Summa	3 h.	4,1385	4,0675	0,0710	0,0085	0,0625	0,0535	0.0090
%	—	100	98,28	1,72	0,21	1,51	1,29	0,22

Die Menge der binnen 1 Stunde secernirten Galle beträgt — pro Kilo Körpergewicht: 5,2057 gr.; pro 10 gr. Lebergewicht: 1,6596 gr.; pro Einheit des relativen Lebergewichts: 0,0433 gr.

Gestützt auf experimentelle Daten der vierten Gruppe können wir folgende allgemeine Schlüsse aufstellen:

1. Das mittlere Initialgewicht der Thiere dieser Gruppe (5 Männchen und 1 Weibchen) beträgt 442,8 gr., das mittlere Terminalgewicht — 290,2 gr. Somit macht der mittlere Gewichtsverlust 152,6 gr., resp. 34,46 % aus. Die mittlere Hungerdauer — 131 St. 17 Min. Dem Gewichtsverluste von 1 % entspricht also eine Hungerdauer von 3 St. 49 Min.

2. Das mittlere absolute Lebergewicht bei den hungernden Thieren der vierten Gruppe = 10,268 gr., das mittlere relative Gewicht — 3,54 %. Man kann also sagen, dass bei einem Gewichtsverluste von 34,46 % das Lebergewicht im Mittel $^{1}/_{28,3}$ des Körpergewichts ausmacht.

3. Der Gehalt der Leber und des Blutes an Wasser und festen Bestandtheilen ist in 4 Versuchen bestimmt worden. Das mittlere $Q_h = 72{,}32 : 27{,}68 = 2{,}61$.

4. Das mittlere $Q_s = 75{,}20 : 24{,}80 = 3{,}03$.

5. S ist im Mittel = 5,5729 gr.

6. Der mittlere Werth von s = 1,5364 gr.

7. σ beträgt im Mittel 0,0576 gr.

8. Die mittlere Zusammensetzung der Galle bei einem Verluste des Körpergewichts von 34,46 % lässt sich folgendermassen ausdrücken:

δ. Wasser	98,32 %.
ε. Feste Bestandtheile	1,68 %.
ζ. Feste in Alkohol unlösliche Stoffe	0,40 %.
η. Feste in Alkohol lösliche Stoffe	1,28 %.
ϑ. Feste in Alkohol lösliche, in Aether unlösliche Stoffe	1,10 %.
ι. Feste in Alkohol und in Aether lösliche Stoffe	0,18 %.

Demnach ist $\delta > \varepsilon > \eta > \vartheta > \zeta > \iota$. Das allgemeine mittlere Q_f (resp. $\delta : \varepsilon$) = 58,5.

9. Das mittlere Q der Galle, aus den Versuchen berechnet, in welchen die Zusammensetzung der Leber und des Blutes bestimmt worden ist, $= 98{,}21 : 1{,}79 = 54{,}9$. Es ist also $Q_h : Q_f = 2{,}61 : 54{,}9 = 0{,}048$.

10. Dementsprechend ist auch $Q_s : Q_f = 3{,}03 : 54{,}9 = 0{,}055$. Es ergibt sich hieraus, dass bei einem mittleren Gewichtsverluste von 34,46 % das Verhältniss des Wassers zu den festen Bestandtheilen in der Galle 18,1 mal grösser ist, als im Blute.

Tal

Mittelwerthe für die Gallenabsonderung bei Meerschweinchen.

verl

Nahrungsverhältnisse.	Gesammtzahl der Thiere.	Zahl der Männchen und der Weibchen.	Mittleres Körpergewicht in gr.		Mittlerer Gewichtsverlust		Mittlere Dauer der Hungerperiode in Stund. und Min.	Mittleres Lebergewicht		Procentgehal an Wasser und an fes Stoffen			
			initiales.	terminales.	absol. in gr.	relat. in % des initial. Körpergewichts.		absol. in gr.	relat. in % des entspr. Körpergewichts.	im Blute.		in der Leb	
Vollst. Inanition	6	5 ♂ + 1 ♀	442,8	290,2	152,6	34,46	131 St. 17 Min.	10,268	3,54	75,20	24,80	72,32	[illegible]

Zum Schlusse dieser Uebersicht unserer Hungerversuche wollen wir noch einige Worte sagen über die Gallensecretion in den letzten Momenten des Lebens.

Der Zustand der oben verzeichneten Meerschweinchen war ein solcher, dass sie noch eine Zeit lang nach dem dreistündigen Versuche am Leben bleiben könnten. In anderen Fällen waren die Thiere, denen die Gallenfistel angelegt wurde, bereits viel schwächer. Der Gewichtsverlust war übrigens bei diesen Thieren demjenigen sehr nahe, welchen wir für die Thiere der vierten Gruppe festgestellt haben. Gewöhnlich gelang es dann, nur einige Tropfen Galle zu sammeln, welche es kaum lohnte, einer Analyse zu unterwerfen. Derartiges habe ich beim Gewichtsverluste von 34,94 %, resp. 36,45 % beobachtet. Einmal konnte ich beim Meerschweinchen, welches

11. Aus den stündlichen Schwankungen der Secretionsenergie ergibt sich folgende Reihe relativer Zahlenwerthe:

100 — 92,50 — 78,88.

12. Die wichtigsten Mittelwerthe, welche hier besprochen worden sind, legen wir in der Tabelle E vor.

E.

in Folge vollständiger Inanition 32,01 %—37,79 % Körpergewicht haben.

Durchschnittsmenge der während 1 Stunde secernirten Galle in gr.			Zusammensetzung der Galle (in %):						Stündliche Schwankungen der Gallenabsonderung, in mittleren relativen Zahlenwerthen ausgedrückt:		
pro 1 Kilo Körpergewicht.	pro 10 gr. Lebergewicht.	pro Einheit des relativen Lebergewichts.	Wasser.	Feste Stoffe.	Der in Alkohol unlösliche Theil des festen Rückstandes.	Der in Alkohol lösliche Theil des festen Rückstandes.	Der in Aether unlösliche Theil des trockenen Alkoholextractes.	Der in Aether lösliche Theil des trockenen Alkoholextractes.	1. Stunde.	2. Stunde.	3. Stunde.
5,5729	1,5364	0,0576	98,32	1,68	0,40	1,28	1,10	0,18	100	92,50	78,88

in 96 St. 30 Min. 36,06 % seines Körpergewichts (355 gr. — 227 gr. = 128 gr.) eingebüsst hatte, nur 1,246 gr. Galle während 2 St. 15 Min. sammeln. Die Entnahme der Galle habe ich im Augenblicke des Todes unterbrochen. Die Leber dieses Thieres wog 10,427 gr.; ihr relatives Gewicht betrug somit 4,59 %. Die Berechnung der Secretionsenergie auf Grund dieser Daten zeigt, dass S = 2,441 gr., s = 0,531 gr. und σ = 0,025 gr. ist. Die Zusammensetzung der Galle war hier: δ = 98,31 %; ε = 1,69 %; ζ = 0,32 %; η = 1,37 %; ϑ = 0,48 %; ι = 0,89 %. Aus diesem Versuche erhellt, dass selbst bei maximaler Abmagerung, welche durch die vollständige Inanition erzeugt wird, die Gallensecretion im Grossen und Ganzen denselben Charakter beibehält, welcher sich aus der vierten Versuchsreihe ergeben hat.

III.

Zusammenstellung der verschiedenen Inanitionsphasen und Vergleich der hungernden und durstenden Thiere mit den normalen.

Nachdem wir nun mit den Bedingungen und mit der Energie der Gallensecretion sowohl unter normalen Verhältnissen wie bei vollständiger Inanition bekannt geworden sind, wenden wir uns jetzt an den Vergleich und die Zusammenstellung der experimentellen Daten. Der Plan, welcher dabei befolgt werden soll, ist durch die Reihenfolge der obigen Sätze vorausbestimmt.

1. Vor Allem sei bemerkt, dass das allgemeine mittlere Initialgewicht der hungernden Thiere 513 gr. beträgt. Da das mittlere allgemeine Körpergewicht der normalen Thiere in unseren ersten 12 Versuchen gleich 486,3 gr. ist, so ist leicht ersichtlich, dass unter den zwei zu vergleichenden Kategorien von Thieren keine auffallende Gewichtsdifferenz besteht; das kleine Uebergewicht zu Gunsten der hungernden Thiere kann offenbar keinen störenden Einfluss auf unsere Betrachtungen haben. Etwas bedeutender war der Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen von hungernden Thieren. Man muss jedoch im Auge behalten, dass die Anschaffung von Thieren mit vollständig gleichem Körpergewichte äusserst schwierig ist und dass wir über die Energie der Gallenabsonderung nicht nach den absoluten, sondern nach den relativen Zahlenwerthen urtheilen. Weiter sei darauf hingewiesen, dass auch das Geschlecht der Thiere nach Möglichkeit in Betracht gezogen wurde (sowohl die gefütterten wie die hungernden Meerschweinchen waren der überwiegenden Mehrzahl nach Männchen; schwangere Weibchen wurden ausgeschlossen). Aus alledem folgt, dass unser Material als hinreichend gleichartig betrachtet werden kann.

2. Da dem Verluste von 1% Körpergewicht eine mittlere Hungerdauer von 3 St. 32 Min. (1. Gruppe), 4 St. 23 Min. (2. Gruppe), 4 St. 34 Min. (3. Gruppe) und 3 St. 49 Min. (4. Gruppe) entspricht, so ist anzunehmen, dass die hungern-

den und durstenden Meerschweinchen durchschnittlich 1 ‰ Körpergewicht in 4 St. 4 Min. verlieren. Angesichts der angeführten Zahlenwerthe könnten gewisse Erwägungen auch in Betreff der Vertheilung der Gewichtsverluste in den einzelnen Hungerphasen gestattet werden; wir wollen jedoch davon absehen und zwar wegen der Umstände, welche oben notirt worden sind.

3. Das mittlere relative Lebergewicht, welches unter normalen Verhältnissen 3,38 ‰ beträgt, schwankt beim Hungern zwischen nicht allzuweiten Grenzen: 3,03 ‰ (1. Gruppe), 3,36 ‰ (2. Gruppe), 3,25 ‰ (3. Gruppe) und 3,54 ‰ (4. Gruppe). Berechnen wir das mittlere relative Lebergewicht für sämmtliche hungernde Versuchsthiere, so erhalten wir — 3,30 ‰. Es folgt daraus, dass das relative Lebergewicht beim Hungern verhältnissmässig geringe Veränderungen erfährt: die Abnahme des Lebergewichts ist derjenigen des Körpergewichts nahezu direct proportional oder übertrifft dieselbe nur um Geringes. Man glaube aber nicht, dass das genannte Verhältniss in den verschiedenen Hungerphasen unverändert bleibt. Diese Seite der Frage wurde bis jetzt noch nicht gebührend beachtet, — man suchte hauptsächlich die terminalen Veränderungen zu bestimmen. In Erwartung grösserer Beobachtungsreihen wollen wir uns vorläufig mit einer möglichst allgemein gehaltenen Formel begnügen: im Anfangsstadium des Hungerns scheint das relative Gewicht der Leber am geringsten zu sein; in den mittleren Stadien nimmt es zu, indem es zur Norm zurückkehrt, und im Endstadium übertrifft es die Norm (vgl. Tafel II, E). Künftige Versuche werden Auskunft darüber geben, ob dieser Formel eine allgemeine Bedeutung zukommt. Jedenfalls bin ich der Meinung, dass die Frage nicht nur in Betreff der Leber, sondern auch in Betreff anderer Organe berücksichtigt zu werden verdient.

4. Die Zusammensetzung des Lebergewebes, welche bei 8 normalen und 20 hungernden Meerschweinchen bestimmt worden ist, wird, wie bekannt, nach den Zahlenwerthen Q_h abgeschätzt, welche das Verhältniss des Wassers zum

festen Rückstande ausdrücken. Unter normalen Bedingungen ist $Q_h = 2,57$. Bei hungernden Thieren haben wir folgende Zahlenwerthe für Q_h erhalten: 2,50 (1. Gruppe), 2,36 (2. Gruppe), 2,23 (3. Gruppe), 2,61 (4. Gruppe). Demgemäss könnte man sagen, dass Q_h beim Hungern im Mittel etwas sinkt (der allgemeine Mittelwerth von $Q_h = 2,42$; beim Ausrechnen dieses Werthes wurde die Zahl der Analysen in jeder Gruppe berücksichtigt). Mit anderen Worten, wird dieses Organ wasserärmer. Dieser Schluss stimmt mit unseren früheren Beobachtungen an Tauben genügend überein[1]); doch ist es auch hier zu betonen, dass die Zusammensetzung eines und desselben Organs in den verschiedenen Hungerstadien eine verschiedene sein kann, d. h. dass es unrichtig wäre, nach den durchschnittlichen Veränderungen oder nach den Endzuständen über die zeitliche Entwickelung des Processes zu urtheilen. Unsere Kenntnisse in der letztgenannten Richtung sind gegenwärtig noch recht spärlich; mit der Zeit werden sie jedoch vervollständigt werden, sobald die Nothwendigkeit einer genaueren Feststellung der betreffenden Erscheinungen einleuchten wird[2]). Zur Erläuterung des Gesagten sei es gestattet, für die Leber folgenden Satz provisorisch aufzustellen: es scheint, dass das Lebergewebe in den Initial- und Mittelstadien des Hungerns beständig wasserärmer wird, am Ende desselben wird es dagegen wasserreicher, kehrt zur Norm zurück und übersteigt sogar dieselbe. Selbstverständlich genügen unsere Beobachtungen nicht, um diesen Satz entgültig zu beweisen; sie reichen immerhin aus, um die Aufmerksamkeit auf diese Seite der Lehre von der Inanition zu lenken[3]).

5. Die Zusammensetzung des Blutes, welche in denselben 28 Versuchen geprüft worden ist, wo auch die Zusammen-

---

[1]) Vgl. die S. 96 citirte Mittheilung.

[2]) Geleitet von derartigen Erwägungen habe ich Herrn Dr. J. Raum vorgeschlagen, hämometrische Studien an hungernden Thieren vorzunehmen. Die Ergebnisse seiner Untersuchungen hat er im Archiv f. exper. Pathologie und Pharmakologie, 1890, niedergelegt.

[3]) Vgl. meine Abhandlung, cit. S. 96 (S. 44 u. ff.).

setzung der Leber bestimmt wurde, kann folgendermassen charakterisirt werden: normaliter ist $Q_s = 3{,}52$; beim Hungern, den einzelnen Stadien entsprechend, finden wir dagegen für Q_s folgende Werthe: 3,46 (1. Gruppe), 3,16 (2. Gruppe), 3,07 (3. Gruppe) und 3,03 (4. Gruppe). Im Mittel aus allen Hungerversuchen ist $Q_s = 3{,}20$. Die Zusammensetzung des Blutes beim Meerschweinchen scheint folglich im Verlaufe der vollständigen Inanition eine Neigung zu progressivem Wasserverluste zu äussern[1]): es lässt sich in der That nicht verkennen, dass die eben angeführten Zahlenwerthe für Q_s eine regelmässig abnehmende Reihe darbieten.

6. Die bis jetzt formulirten Sätze beziehen sich auf Fragen, welche nicht unsere Hauptaufgabe bilden. Indem wir nun zur vergleichenden Uebersicht der Daten übergehen, welche die Eigenthümlichkeiten der Gallensecretion unter normalen Umständen und bei vollständiger Inanition bestimmen, betreten wir das Gebiet, welchem unsere Hauptaufmerksamkeit zugewandt war. Es fragt sich vor Allem: wie verändern sich die Zahlenwerthe S, s und σ beim Hungern? Fassen wir die betreffenden Daten zusammen, so erhalten wir folgende Tabelle:

Zustand der Thiere:		S	s	σ
Normale Thiere:		9,3006	2,7523	0,1555
Hungernde Thiere.	I. Gruppe	9,5023	3,1500	0,1570
	II. »	7,5552	2,2301	0,1030
	III. »	7,5259	2,2152	0,0952
	IV. »	5,5729	1,5364	0,0576

Der Sinn dieser Tabelle ist ganz klar: die Werthe S, s und σ, mit deren Hülfe wir die Absonderungsenergie messen,

[1]) Gelegentlich der Versuche an Tauben (vgl. S. 96) habe ich gefunden, dass der normale Werth für $Q_s = 3{,}36$, dagegen beim Hungern — 3,43 ist. Wodurch dieser Unterschied veranlasst wird, ist schwer zu beantworten. Es sei nur bemerkt, dass bei hungernden und durstenden Kaninchen Herr Dr. J. Raum (vgl. S. 130, Anm. 2) eine progressive Steigerung der Färbekraft des Blutes constatirt hat.

weisen sehr regelmässige und gleichartige Veränderungen auf, welche in den Durchschnittszahlen besonders deutlich zum Vorschein treten. Vor Allem bemerken wir, dass in der ersten Hungerphase, entsprechend dem mittleren Gewichtsverluste von 5,53%, die im Laufe 1 Stunde secernirte Gallenmenge, **pro** 1 Kilo Körpergewicht, **pro** 10 gr. Lebergewicht und **pro** Einheit des relativen Lebergewichts berechnet, die Norm etwas übersteigt. Zweitens ist hervorzuheben, dass in den nachfolgenden Hungerphasen die Secretionsenergie immer mehr und mehr sinkt, was aus allen 3 Reihen der Tabelle ersichtlich ist. Bemerkenswerth ist es drittens, dass die Secretionsenergie weder der Hungerdauer noch den Gewichtsverlusten des Körpers proportional sinkt: in den mittleren Hungerphasen, den Gewichtsverlusten von 16,18% und 25,17% entsprechend, sinkt sie langsamer, als vorher und später, wie dieses sich aus der Zusammenstellung der 2. und 3. Gruppe mit der 1. und 4. ergibt. Was endlich die letzte Hungerphase mit einem Gewichtsverluste von 34,46% betrifft, so finden wir hier den Werth S 1,7mal geringer als **normaliter**, den Werth s 1,8mal geringer und σ — 2,7mal.

Angesichts der Wichtigkeit dieser Daten haben wir sie in der Tafel 1, A und B, graphisch wiedergegeben.

7. Die eben besprochenen Schwankungen der Werthe S, s und σ legen es schon nahe, dass auch in der Zusammensetzung der Galle den Hungerphasen entsprechende typische Veränderungen stattfinden müssen. In der That ist es dem auch so.

Fassen wir die Zusammensetzung der Galle näher in's Auge, so nehmen wir zunächst wahr, dass der Werth Q_f, welcher unter normalen Umständen 75,3 beträgt, in der ersten Hungerphase etwas steigt (bis 78,4), dann aber, in der zweiten und dritten Phase, in gleichem Grade sinkt (bis 64,8); in der letzten Phase nimmt er noch stärker ab (bis 58,5) (vgl.

Tafel II, C). Demnach wird die Galle Anfangs etwas verdünnt, später aber concentrirt sie sich immer mehr; lehrreich ist dabei der Umstand, dass der Gehalt an festen Stoffen nicht fortwährend steigt: nachdem er eine gewisse Höhe erreicht hat, bleibt er auf derselben eine Zeit lang stehen, und erst zu Ende des Hungerns steigt die Concentration wieder. Uebrigens sind diese Schwankungen im Allgemeinen nicht sehr bedeutend: beim gut gefütterten Meerschweinchen enthält die Galle im Mittel 1,31 % feste Bestandtheile; in der letzten Hungerphase, beim Gewichtsverluste von 34,46 %, — 1,68 %. Ausserdem belehrt die erste Versuchsreihe, dass, wenn auch bei keinem der normalen Thiere die Gallenconcentration eine derartige Höhe erreicht, der Werh ε manchmal ziemlich gross ist (so ist z. B. im Versuch 2 $\varepsilon = 1{,}55$ %). Wir haben also anzunehmen, dass bei einer kleineren Versuchsreihe der genannte Umstand unbemerkt bleiben würde, da die individuellen Schwankungen in den Durchschnittswerthen nicht zum Ausgleiche gekommen wären.

Zweitens muss hervorgehoben werden, dass der Procentgehalt an Bestandtheilen der Gruppe ζ (Schleim, Pigmente) im Allgemeinen eine Neigung zum Sinken äussert; nur im zweiten Hungerstadium ist ein Zuwachs dieser Bestandtheile bemerkbar.

Was, drittens, die Substanzen der Gruppe η (gallensaure Salze, Fette, Lecithin, Cholesterin, Pigmente) betrifft, so wachsen sie deutlich und stetig an. Zur Illustration des Gesagten genügt der Hinweis darauf, dass η unter normalen Bedingungen 0,66 % beträgt, in der letzten Hungerphase dagegen — 1,28 %.

Gleich stetigen Zuwachs weisen, viertens, die Durchschnittswerthe für ϑ (gallensaure Salze) auf. Wir führen hier die betreffenden Zahlenwerthe vollständig an: unter normalen Verhältnissen ist $\vartheta = 0{,}58$ %, in der ersten Hungerphase — 0,70 %, in der zweiten — 0,75 %, in der dritten — 0,82 %, in der vierten — 1,10 %.

Einem ebenfalls deutlichen Zuwachs begegnen wir, fünftens, *auch in der Gruppe* ι (Fette, Lecithin, Cholesterin), *obgleich nur in dem letzten Hungerstadium*; in den Anfangs- und Mittelstadien sind die betreffenden Werthe eher etwas niedriger.

Selbstverständlich besitzen diese Sätze — mit Ausnahme des ersten — nur eine beschränkte Bedeutung, da die absoluten Werthe, mit welchen wir hier zu thun haben, im Allgemeinen gering sind; hauptsächlich gilt dieses für die Kategerie ι. Es soll aber nicht ausser Acht gelassen werden, dass wir hier die Mittelwerthe aus einem ziemlich reichhaltigen Material schöpfen und dass die besprochenen Veränderungen einen bei Weitem nicht regellosen Charakter aufweisen.

Fassen wir nun Alles zusammen, so können wir behaupten, dass *zu Ende des Hungerns die Galle reicher an festen Substanzen wird und zwar durch Zuwachs ihrer wichtigsten Bestandtheile.*

Da die Werthe S, s und σ in den Mittel- und Schlussstadien des Hungerns eine Neigung zum Sinken aufweisen, so könnte man, in Uebereinstimmung mit dem über die Eindickung der Galle Gesagten, voraussetzen, dass die absolute Menge von festen Stoffen, welche mit der Galle hinausbefördert werden, *in statu quo* bleibt. Eine einfache Berechnung zeigt aber, dass es dem nicht so ist. Als Beispiel seien hier die mittleren Quantitäten von festen Bestandtheilen angeführt, welche *pro* Stunde und *pro* Einheit des relativen Lebergewichts mit der Galle abgeschieden werden[1]): bei normalen Thieren — 0,00204 gr.; in der ersten Hungerphase — 0,00198 gr., in der zweiten — 0,00157 gr., in der dritten — 0,00145 gr., in der vierten — 0,00097 gr. Man muss demnach zugeben, *dass die Verminderung der absoluten Gallenmenge durch Eindickung nicht vollständig*

---

[1]) Die betreffenden Werthe sind aus der Gleichung — $\sigma : x = 100 : \varepsilon$ berechnet, wobei mit ε der Procentgehalt an festen Bestandtheilen in der Galle bezeichnet wird.

gedeckt wird: es sinkt bei hungernden Thieren nicht nur die Wasserausscheidung, sondern auch die der festen Bestandtheile.

8. Vergleichen wir unter einander das Verhältniss des Wassers zu den festen Bestandtheilen in der Leber (Q_h) und das in der Galle (Q_f), bei normalen und hungernden Thieren, so finden wir, dass zu Beginn des Hungerns der Quotient $Q_h : Q_f$ etwas sinkt, um später zu steigen, wie aus nachfolgender Reihe ersichtlich ist: 0,033 (Norm); 0,032 (1. Hungerphase); 0,036 (2. Hungerphase); 0,035 (3. Hungerphase); 0,048 (4. Hungerphase). Der Zuwachs erfolgt auch hier ungleichmässig; dabei bleibt der Zuwachs der 2. Phase in der 3. beinahe unverändert. Es verrathen also die Werthe Q_h und Q_f eine Neigung, sich einander zu nähern (vgl. Tafel II, D).

9. Ganz analoge Ergebnisse erhält man beim Vergleich der Werthe Q_s (Verhältniss des Wassers zu den festen Bestandtheilen im Blute) und Q_f. Für den Quotienten $Q_s : Q_f$ ergeben sich folgende Zahlenwerthe: 0,045 (Norm); 0,044 (1. Hungerphase); 0,048 (2. Hungerphase); 0,048 (3. Hungerphase); 0,055 (4. Hungerphase). Auch hier nähern sich also die zu vergleichenden Werthe einander, was in der 4. Phase besonders deutlich hervortritt. Bemerkenswerth ist ebenfalls, dass die zweite und dritte Phase ein gleiches Verhalten aufweisen und dass die Veränderungen während der ersten Phase einen gewissermassen entgegengesetzten Charakter tragen (vgl. Tafel II, D).

10. Was die zeitlichen Schwankungen der Absonderungsenergie betrifft, so könnte man ihre Breite im Allgemeinen durch relative Zahlenwerthe ausdrücken, welche durch Subtrahiren der Minima von den Maxima erhalten werden:

100 (1. Stunde) — 91,99 (2. Stunde) = 8,01 (Norm);
100 (1. Stunde) — 85,04 (3. Stunde) = 14,96 (1. Hungerphase);
100 (1. Stunde) — 86,56 (3. Stunde) = 13,44 (2. Hungerphase);
100 (1. Stunde) — 75,70 (3. Stunde) = 24,30 (3. Hungerphase);
100 (1. Stunde) — 78,88 (3. Stunde) = 21,12 (4. Hungerphase).

Hieraus ersehen wir, dass im Verlaufe des Versuchs die Energie der Gallenabsonderung bei hungernden Thieren viel deutlicher sinkt, als bei normalen; ferner ist es einleuchtend, dass in der ersten Hälfte der Hungerperiode die Abnahme der Secretionsenergie geringer ist, als in der zweiten.

Die Tabellen A, B, C, D und E (vgl. oben I. und II. Cap.) überzeugen uns ausserdem, dass bei hungernden Thieren das Minimum der Leistungsfähigkeit der Leber in die 3. Stunde fällt, während es bei normalen der 2. Stunde entspricht. Dieser Satz hat freilich nicht die Bedeutung, welche den vorausgehenden zukommt: gar nicht selten sinkt auch bei normalen Thieren die Gallensecretion während der 3. Stunde ebenso stark, als in der 2. Wie dem auch sei, die Beurtheilung der Mittelwerthe von dem angegebenen Standpunkte aus liefert einen neuen Beleg für die Schlüsse, welche auf Differenzen zwischen den Maxima und Minima aufgestellt worden sind.

Mehrfach haben wir darauf hingewiesen, dass die erste Gruppe der hungernden Thiere, welche circa 5% von ihrem Körpergewichte verloren haben, und die vierte Gruppe mit einem beinahe maximalen Gewichtsverluste (circa 35%) sich in Betreff der Gallensecretion ganz verschieden verhalten, während die zweite und die dritte Gruppe, mit Gewichtsverlusten von circa 15% und circa 25%, quantitativ einander sehr nahe stehen und den qualitativen Veränderungen der Leberthätigkeit nach sich der vierten Gruppe anreihen, Daraus muss geschlossen werden, dass es irrig wäre, die Erscheinungen, welche während der einzelnen Hungerstadien auftreten, unter eine gemeinsame Formel bringen zu wollen, da der Mechanismus, welcher der besprochenen functionellen Störung zu Grunde liegt, ebenso veränderlich wie zusammengesetzt ist.

Angesichts aller Einzelheiten, welche die Gallenabsonderung bei hungernden Thieren charakterisiren, sind wir ge-

neigt zu behaupten, dass auch beim Hungern eine Art stabilen Gleichgewichts möglich ist, in welchem die Leberfunction ziemlich lange Zeit, entsprechend dem Gewichtsverluste von circa 10% bis circa 30%, verbleiben kann. Dieser langen Periode des stabilen Gleichgewichts geht eine Periode labilen Gleichgewichts voraus, die relativ kurzdauernd ist; eine ähnliche labile Periode folgt der stabilen nach. Ohne Weiteres ist es klar, dass die erste labile Periode durch die Störung des natürlichen Gleichgewichts beim Uebergange von der normalen Lebensweise zum Hungern, während die letzte — durch Störung des künstlichen Gleichgewichts beim Uebergange vom Hungern zum Tode bedingt wird. Als typisch für den Hungerzustand müssen also diejenigen Veränderungen gelten, welche in den mittleren Hungerphasen auftreten.

Litterarische Notizen.

Alle Befunde unserer Vorgänger aufzuzählen ist wohl überflüssig; dieselben sind in Folge verschiedener Versuchsanordnung mehr oder weniger widersprechend. Auch sehen wir von einer detaillirten Zusammenstellung der bisherigen Ergebnisse mit den unserigen ab. Nur darauf wollen wir hinweisen, dass in der vorliegenden Mittheilung auch solche Seiten der Frage berücksichtigt worden sind, welche in den früheren Arbeiten unberührt blieben.

Mit Rücksicht auf das Gesagte wird es wohl genügen, die wichtigsten Arbeiten aufzuzählen, deren Inhalt in dieser oder jener Beziehung zu dem uns hier beschäftigenden Thema steht. Dieses Litteraturverzeichniss wird nicht reichhaltig sein; noch kürzer würde es ausfallen, wollten wir diejenigen Autoren bei Seite lassen, welche die Frage nach der Gallenabsonderung bei vollständiger Inanition nur beiläufig behandelt haben. Es kann daher auch nicht Wunder nehmen, dass der Stand der Lehre von der Inanition, sofern dieses die Leberthätigkeit betrifft, von einer Abrundung als weit entfernt betrachtet wird[1]).

1. Collard de Martigny, Recherches expérimentales sur les effets de l'abstinence complète etc. Journal de physiologie expérimentale et pathologique, 1828, t. VIII, p. 152.

[1]) Als Beispiel führe ich die Worte von S. Rosenberg (vgl. No. 15 des Litteraturverzeichnisses) an, dessen Arbeit, der cholagogen Wirkung des Olivenöls gewidmet, Ende 1890 erschienen ist. «Von der Gallenabsonderung im Hungerzustand», sagt er, «war bisher nur bekannt, dass

2. Tiedemann und Gmelin, Die Verdauung nach Versuchen. Heidelberg und Leipzig, 1831, Bd. I.

3. F. Bidder und C. Schmidt, Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel. Mitau und Leipzig, 1852[1]).

---

die Gallenmenge von Stunde zu Stunde sinkt, desgleichen das Wasser und die feste Substanz, und dass die Consistenz von Stunde zu Stunde steigt» (l. c., S. 342). In ähnlicher Weise spricht sich P. Wilischanin aus (vgl. No. 13), welcher unter Anderem die Wirkung der unvollständigen Inanition auf die Gallenabsonderung studirt hat: «Aus der angeführten Litteratur ist es ersichtlich, dass selbst in Betreff der Gallenabsonderung bei vollständiger Inanition die Meinungen der Forscher auseinander gehen. Die Meisten halten an der Ueberzeugung fest, dass das absolute Hungern die Menge der secernirten Galle vermindert und wohl auch den festen Rückstand etwas hebt; die Minorität nimmt an, dass beim Hungern die Galle quantitativ sich wenig verändert. Doch hat Niemand sich der Arbeit unterzogen — mit Ausschluss einiger Fälle der Untersuchung an Leichengalle — den festen Rückstand genau zu prüfen, so dass dieser Theil der Arbeit der Zukunft vorbehalten ist» (l. c., S. 573).

[1]) Die Versuche von Bidder und Schmidt, welche sich auf unser Thema beziehen, sind hauptsächlich an Katzen ausgeführt worden (Meerschweinchen kamen gar nicht zur Untersuchung). Die Initialgewichte der Thiere werden nicht angegeben, so dass der Zustand derselben nach der Hungerdauer beurtheilt wird, was natürlich kaum genügen kann. Das Hungern dauerte $2^1/_2$ bis 240 Stunden. Gesammelt wurde die Galle mittels temporärer Fisteln [beiläufig sei bemerkt, dass die permanenten Fisteln in der That hier weniger nützlich sind, da sie zweifelsohne das Bild des Hungerns compliciren (vgl. darüber C. Ludwig, Physiologie des Menschen, 2. Aufl., II. Bd., S. 325)]. Die Gesammtzahl der hungernden Katzen beläuft sich auf 20. Die Gallenanalyse reducirte sich zur Bestimmung des Gehaltes an Wasser und festen Stoffen (die Zusammensetzung der letzteren blieb unbekannt). Hinweise auf parallele Veränderungen der Leber und des Blutes fehlen. Das Gewicht der Leber ist auch nicht immer in einwandsfreier Weise bestimmt worden. Ueber die Energie der Gallenabsonderung urtheilen die Verfasser nach den pro Stunde und pro Kilo Körpergewicht secernirten Gallenquantitäten. Ihre Hauptschlüsse resümiren sie folgendermassen: «. . . (es) ergibt sich zunächst, dass schon in den ersten Stunden nach der Mahlzeit und ehe noch der aus den Speisen aufzunehmende Nahrungsstoff in die Blutmasse gelangt war, blos in Folge des durch die Speisenaufnahme gesteigerten Blutzuflusses zu den Verdauungsorganen die Gallensecretion vermehrt wird, und dass die Vermehrung ihren Höhepunkt erreicht 12—15 Stunden nach der Mahlzeit, wo aller Wahrscheinlichkeit nach die genossene Nahrung vollständig verdaut, resorbirt und in die Blutmasse gelangt ist. Von hier

4. Report of the Thirtyeigt Meeting of the British Association for the Avancement of Sciences; held at Nowich in August 1868. London, 1869 [1]).

5. W. Manassein, Chemische Beiträge zur Fieberlehre. Ueber die wässerigen und alkoholischen Extracte der Muskeln und Leber von fiebernden und hungernden Thieren. Virchow's Archiv, Bd. LVI, S. 220.

6. Spiro, Ueber die Gallenbildung beim Hunde. Archiv von Du Bois-Reymond, 1880, Suppl.-Bd., S. 50.

7. F. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, II. Theil, Berlin, 1878, S. 307 [2]). Vgl. auch IV. Theil, Berlin, 1881, S. 925.

---

an beginnt wieder eine Abnahme der Lebersecretion, so dass sie 24 Stunden nach der Mahlzeit selbst weit unter das Maass herabsinkt, das sie gleich nach der Mahlzeit erreicht hatte ... Es ergibt sich ferner ... dass die am Ende der tägigen Periode eingetretene Abnahme der Gallenabsonderung immer weiter fortschreitet, falls nicht durch Darreichung neuer Nahrung eine neue Steigerung derselben bewirkt wird, so zwar, dass nach 10 tägigem Fasten die Menge dieses Secretes bis auf den vierten Theil derjenigen Quantität herabsinkt, in welcher es bei regelmässiger Fütterung noch am Ende des ersten Tages zum Vorschein kam. Dieses Sinken der Gallenmenge geschieht aber nicht in einfachem geraden Verhältniss, vielmehr wird das Maass der täglichen Verminderung um so kleiner, je weiter man von der letzten Mahlzeit sich entfernt» (l. c., S. 144—145). ... «Es dürfte ferner keineswegs blosser Zufall sein, dass das Mittel aus den 12—15 Stunden nach der Mahlzeit angestellten Versuchen — wo die Gallensecretion am lebhaftesten ist — das Lebergewicht zu $^1/_{25}$ des Körpergewichts angibt, dass es dagegen $2^1/_2$—3 Stunden nach der Mahlzeit auf $^1/_{30}$, nach 24—48 Stunden auf $^1/_{31}$ und nach 7 tägigem Fasten fast bis auf $^1/_{37}$ sinkt» (l. c., S. 153).

[1]) Vgl. Wilischanin (No. 13 des Litteraturverzeichnisses), der auch Wickham Legg citirt (On the bile, jaundice and bilios. diseases, London, 1880).

[2]) Verfasser führt einen Versuch am Hunde (11 Kilo Körpergewicht) an, bei welchem er die Gallenabsonderung während 57,5 Stunden nach der letzten Mahlzeit beobachtet hat. Den absoluten Werthen legt der Verfasser selbst keine grosse Bedeutung bei und bespricht hauptsächlich die Veränderungen in der Zusammensetzung der Galle. Er sagt darüber Folgendes: «Die Quantitäten des halbstündlich ausgeschiedenen Mucin schwanken bedeutend, von 0,0036 bis 0,0465; dieser letzte Werth mag aber auf einer Abweichung beruhen, da hiernach der höchste Werth 0,0191 beträgt, derselbe nochmals wiederkehrt und sechsmal Werthe von 0,0154 bis 0,0191 erhalten sind, während die Werthe 0,0036 bis 0,0062 siebenmal auftreten. Jedenfalls zeigt sich keine Beziehung der Mucinausscheidung zu der Zeit, welche seit der Nahrungseinnahme vergangen war. Das taurocholsaure Natron wurde bei Weitem am reichlichsten in

8. C. v. Voit, Ueber die Beziehungen der Gallenabsonderung zum Gesammtstoffwechsel im thierischen Organismus. Festschrift z. Jubelfeier d. Würzburger Universität, 1882.

9. C. v. Voit, Ueber die Bedeutung der Galle für die Aufnahme der Nahrungsstoffe im Darmhanal. Stuttgart, 1882.

10. Baldi, Recherches expérimentales sur la marche de la sécrétion biliaire. Archives ital. de biologie, 1883, t. III, p. 389. — Sul decorso della secrezione biliare. Lo Sperimentale, p. 349, 1883.

11. Lussana, Sur la sécrétion quantitative et qualitative de la bile dans l'état d'inanition après la coupe des deux pneumo-gastriques. Archives italiennes de biologie, 1884, t. V, p. 26.

12. G. Gaglio, Influenza dell' inanizione sulla struttura dell felgato et dello stomaco. Arch. per le sc. med., vol. VIII, No. 8, 1884.

13. P. Wilischanin, Beiträge zur Physiologie und Pathologie der Gallenabsonderung unter gewissen Bedingungen. Klin. Wochenschrift, 1886, S. 569[1]) (russisch).

---

der fünften Stunde nach der Fütterung ausgeschieden, ebenso die Stoffe des Aetherauszuges (Cholesterin, Lecithin, Fette, Seifen) und die anorganischen Salze. In der zehnten bis elften Stunde scheint eine abermalige Steigerung vorhanden zu sein, dieselbe ist jedoch zweifelhaft und es scheint ihr keine oder nur geringe Steigerung der Salzausscheidung zu entsprechen. Sehr auffallend ist die sehr geringe Salzausscheidung im nüchternen Zustande, sie entspricht der geringen Wasserausscheidung in der Galle zu dieser Zeit» (S. 308—309).

[1]) Verfasser prüfte die Wirkung der unvollständigen Inanition, des Fiebers, der hohen äusseren Temperatur und der Phosphorvergiftung. Versuche an Hunden mit permanenten Fisteln und Ligatur des ductus choledochus. Zum Versuche trat der Verfasser $1^1/_2$ bis 2 Monate nach der Operation heran. Die Zusammensetzung der Galle wurde im Allgemeinen nach demselben Verfahren, wie in meinen Versuchen, bestimmt. Die Gallenabsonderung beobachtete man beim Hunde im Zustande unvollständiger Inanition (100 cbcm. Wasser täglich) 10 Tage lang je 10 Stunden. Während dieser Zeit kam das Thier von 9310 gr. Körpergewicht auf 7300 gr. herab (Verlust von 21,6 %). Lebergewicht unbekannt. Seine Ergebnisse resümirt Wilischanin folgendermassen: «die absolute Gallenmenge sinkt bei unvollständiger Inanition im Beginn ziemlich rasch, vom 6. Tage an bedeutend langsamer und vom 8. Tage an fast gar nicht mehr. Die Menge des festen Rückstandes ändert sich vom 3. Tage an nur wenig. Die Quantität der in Alkohol unlöslichen Stoffe, also hauptsächlich des Schleimes, schwankt bis zum 6. Tage sehr beständig (unbeständig?) und wird erst von dieser Zeit an mehr oder weniger gleichmässig. Zweifelsohne sind in unseren Versuchen die in Alkohol löslichen Substanzen, also die gallensauren Salze, die wichtigsten. Schliessen

14. S. M. Lukjanow, Ueber den Gehalt der Organe und Gewebe an Wasser und festen Bestandtheilen bei hungernden und durstenden Tauben im Vergleich mit dem bezüglichen Gehalt bei normalen Tauben. Zeitschrift f. physiol. Chemie, 1889.

15. S. Rosenberg, Ueber die cholagoge Wirkung des Olivenöls im Vergleich zu der Wirkung einiger anderen cholagogen Mittel. Pflüger's Archiv, 1889, Bd. XLVI, S. 334[1]).

16. A. Dochmann, Beiträge zur Lehre von der Galle. Ueber die Resorption in der Gallenblase. Memoiren der Naturforscher-Gesellschaft an der k. Universität Kazan, 1889, Bd. XX, S. 215[2]) (russisch).

---

wir den 5. Hungertag aus, welcher eine äusserst geringe Quantität derselben ergab, so können wir sagen, dass der Gehalt an gallensauren Salzen nur bis zum 5. Tage der unvollständigen Inanition sinkt; vom 6. Tage an schwankt der Gehalt an gallensauren Salzen innerhalb ziemlich enger Grenzen. Was die ätherlöslichen Substanzen betrifft — also Lecithin, Fette, Cholesterin — so wachsen sie bei der unvollständigen Inanition bedeutend an. Dieses Anwachsen beginnt ziemlich bald, schon vom 3. Hungertage an, und erreicht am 4. Tage den Höhepunkt, welcher beinahe bis zum Ende des Versuches bewahrt wird. Die chemische Zusammensetzung der Galle bei unvollständiger Inanition verändert sich also vom 6. Tage an wenig, sie bleibt beinahe bei denselben Werthen stehen — eine Thatsache, welche das Recht giebt, uns der Meinung derjenigen Autoren anzuschliessen, die in der Gallenabsonderung viel Aehnlichkeit mit der Harnsecretion finden» (S. 592).

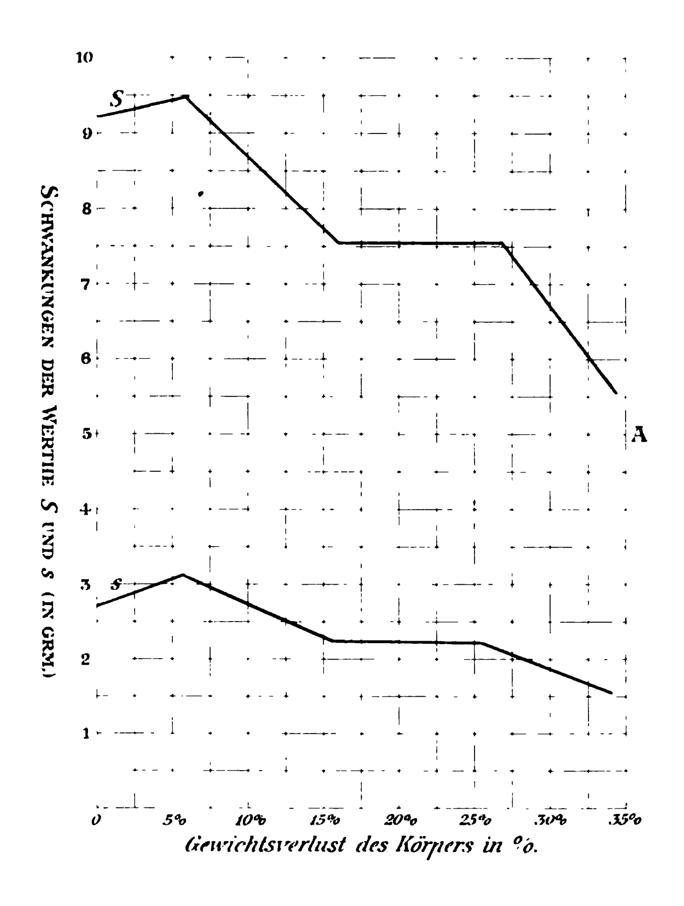
[1]) Versuche an 2 Hunden mit permanenten Fisteln. Von unserem Standpunkte aus verdienen nur diejenigen 7 Versuche des Verfassers Berücksichtigung, welche in den ersten Stunden des zweiten Hungertages ausgeführt worden sind. Die Galle wurde nur in Bezug auf Wasser und festen Rückstand im Allgemeinen analysirt. Auf Grund dieser Versuche behauptet S. Rosenberg, «dass auch beim hungernden Thiere eine Vermehrung der Menge und Verringerung der Consistenz der Galle innerhalb derjenigen Stunden stattfindet, innerhalb deren sonst diese Erscheinung als Folge der Verdauung zur Geltung kommt» (S. 364).

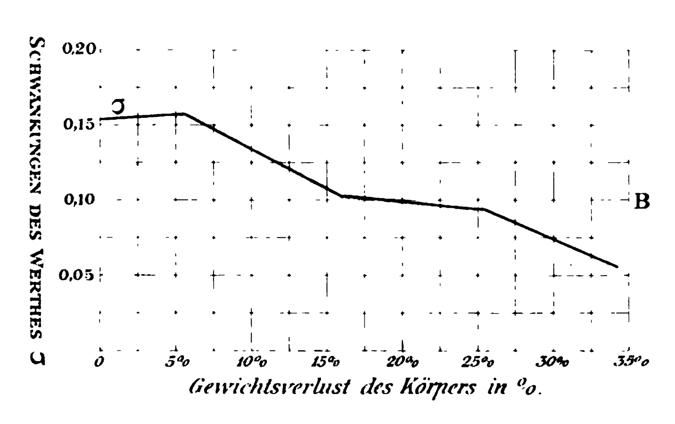
[2]) Versuche an kurarisirten Hunden mit temporären Fisteln. Die Untersuchung der Veränderungen, welche die Galle beim Stagniren in der Gallenblase erfährt, war die Hauptaufgabe. Hungerdauer — 1—84 Stunden. Die Angaben über die Blasengalle lassen wir bei Seite und wollen nur hervorheben, dass «die wasserreichste (Leber-) Galle ... um die 8. Stunde secernirt wurde; dann wuchs der feste Rückstand an und erreichte sein Maximum am zweiten Tage, um später wieder etwas zu sinken» (S. 224). Das Anwachsen des festen Rückstandes in der Lebergalle geht langsamer vor sich, als in der Blasengalle. Der Aschegehalt der Blasengalle ist bedeutender als derjenige der Lebergalle u. s. w.

17. L. Luciani, Das Hungern. Autorisirte Uebersetzung von M. O. Fränkel. Hamburg und Leipzig, 1890[1]).

---

[1]) Die Beobachtungen von Luciani sind an Succi ausgeführt worden, welcher 30 Tage hungerte. Angaben über die Gallensecretion konnten nur indirect ermittelt werden. Verfasser sagt darüber Folgendes: «Wir haben schon erwähnt, dass bei dem freiwilligen Erbrechen Succi's behufs Ausspülung seines Magens fast immer eine gewisse Menge chemisch erkennbarer Gallenstoffe aus dem Zwölffingerdarm in den Magen übertrat und die erbrochene Flüssigkeit gelblich färbte. Da diese Erscheinung mit geringen Abwechslungen während der ganzen Dauer des Fastens sich erhielt, so scheint sie mir den sichern Beweis für die Fortdauer der Gallenabsonderung während der 30 Tage absoluter Abstinenz abzugeben. ... Da es bekannt ist, dass die Farbe der Ausleerungen von veränderten Gallenstoffen herrührt, und da wir gesehen haben, dass sowohl die ersten als auch die letzten Stühle bei Succi stark gefärbt waren, so ziehe ich daraus mit Recht den Schluss, dass die Gallenabsonderung von Anfang bis zu Ende des Fastens nicht ausgesetzt hat» (S. 46—47).





Lith. Werner & Winter, Frankfu

Verlag von Karl J. Trübner in Strassburg



Tafel II.

SCHWANKUNGEN DES WERTHES Q_f.

80
75
70
65
60
55

Q_f

C

0 5% 10% 15% 20% 25% 30% 35%

Gewichtsverlust des Körpers in %.

SCHWANKUNGEN DER QUOTIENTEN $Q_s : Q_f$ UND $Q_h : Q_f$.

0,055
0,050
0,045
0,040
0,035
0,030

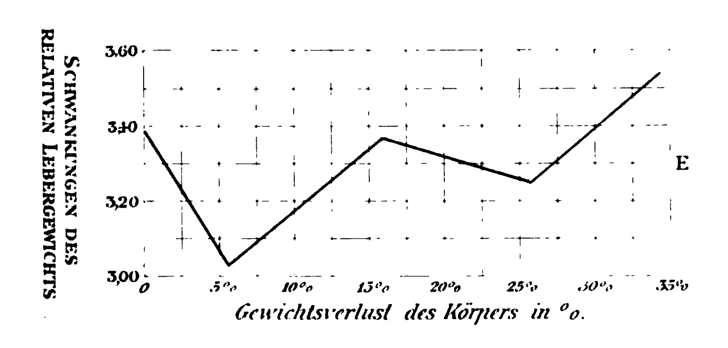
$Q_s : Q_f$

$Q_h : Q_f$

D

0 5% 10% 15% 20% 25% 30% 35%

Gewichtsverlust des Körpers in %.



Lith. Werner&Winter Frankfurt

Verlag von Karl

Weitere Beiträge zur quantitativen Bestimmung des Cholesterins.

Von

Kuno Obermüller.

(Der Redaction zugegangen am 21. August 1891.)

Die quantitative Bestimmung des Cholesterins (resp. der Cholesterine), seine Trennung von den thierischen und pflanzlichen Fetten, bildet seit langer Zeit den Gegenstand eingehender Untersuchungen. Es waren hauptsächlich Hoppe-Seyler, Schulze und Barbieri, welche sich zuerst mit dieser Aufgabe beschäftigt haben. Auf Veranlassung des Herrn Prof. Kossel hatte ich in der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts seit längerer Zeit umfassende Versuche angestellt, zum Zweck, das Cholesterin und das von Schulze im Wollfett entdeckte Isocholesterin mit einander zu vergleichen und auch den Weg zu finden, auf welchem es möglich wäre, zu einer neuen quantitativen Bestimmungsmethode des Cholesterins in den Fetten resp. Fettsubstanzen zu gelangen. Zu Beginn der Frühjahrsferien der Universität hatte ich diese Versuche im Laboratorium von Dr. C. Scheibler (R. Fiebig) fortgesetzt.

Hoppe-Seyler zeigt uns in seinem Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chem. Analyse, 1883, eine quantitative Trennung des Cholesterins von den Fetten wie folgt: «Die Fette werden zunächst in Barytseifen übergeführt, welche man in Wasser zertheilt, aus den Barytseifen werden mittelst Salzsäure die fetten Säuren abgeschieden und durch Schütteln mit Aether in diesen aufgenommen. Alsdann wird

die abgegossene ätherische Lösung mit sehr verdünnter Natronlauge geschüttelt und nach Abheben der ätherischen Lösung diese nochmals mit Wasser versetzt und geschüttelt.»

Wenn diese Methode auch in der Hand geübter Forscher zu brauchbaren Resultaten führen mag, so stehen der allgemeinen Anwendung derselben doch einige Bedenken entgegen, welche ich erwähnen möchte. Mit Schulze und Barbieri stimme ich darin überein, dass die erhaltenen Resultate bei obiger Methode nicht ganz genau werden und ohne Zweifel auch schwer unter einander zu vergleichen sind. Die Seifen werden durch Zusatz von Wasser entfernt, was eben zunächst die Fehler verursacht. Schüttelt man die verseifte Substanz mit Aether aus, so wird dadurch nicht allein das Cholesterin in denselben aufgenommen, sondern zu gleicher Zeit eine Quantität Seife, die immerhin wesentliche Differenzen beim Abwägen herbeiführt, der Aether ist einerseits allein im Stande, Seifen zu lösen (namentlich wenn die Fette ölsäurehaltige sind), anderseits kann er Wasser aufnehmen und so auch palmitin- und stearinsaures Alkali — welche in wasserfreiem Aether schwer löslich sind — auflösen (der Aether nimmt bei mittlerer Temperatur $^1/_{36}$ seines Volums an Wasser auf und 1 Theil Aether löst sich bei 12° in 14 Theilen Wasser). Man hat nun aber ausserdem noch eine alkoholische Seifenlösung, durch welche die Seifenaufnahme in Aether gefördert wird, andererseits aber wieder Cholesterin verloren geht, da eine alkoholische Seifenlösung leicht im Stande ist, Cholesterin in Lösung zu halten, sehen wir ja schon, dass das Cholesterin, welches sich in der Galle vorfindet und im Wesentlichen alsdann die Gallensteine bildet, sich darin in Seifen gelöst befindet. Kurzum, es bietet dieses Verfahren immerhin einige Schwierigkeit, da das Cholesterin in der wässerigen wie in der ätherischen Lösung enthalten ist und ebenso die Seifen; auch habe ich ausserdem die Beobachtung gemacht, dass die syrupartige Seifenmasse, welche nach dem Abdunsten des Alkohols, bei der nach Hehner angegebenen Verseifungsmethode, übrig bleibt, allerdings bei einer Temperatur von 100° Cels. im Stande ist, Cholesterin zu lösen, und glaube die Vermuthung aussprechen

zu dürfen, dass bei dieser Methode jedenfalls leichter Cholesterin in der Seife zur Lösung gebracht wird, als bei der von Kossel und mir seiner Zeit bekannt gegebenen[1]). Die wässerige Seifenlösung bedingt die Anwendung des Scheidetrichters, ein Ausschütteln in demselben, wodurch leicht die widerwärtigen Emulsionen entstehen; die ätherische Schichte von der wässerigen ganz genau trennen zu können, bezweifle ich. Bei Anwendung der Hehner'schen Verseifungsmethode möchte ich folgenden Vorschlag zu einer Modification machen: durch successive Anwendung von möglichst wasserfreiem Aether kann man aus der ursprünglich alkoholischen Seifenlösung die Seifen niederschlagen und dann zum Schluss ein- bis zweimal mit Wasser ausschütteln, dessen Quantität dann weit geringer ist. In wieweit diese Modification von Nutzen ist, konnte ich unter Anderem auch bei einer Darstellung des Isocholesterins aus Lanolin sehen. Verseift man durch intensives Kochen (womöglich unter Druck) mittelst alkoholischem Kali das Lanolin, setzt einmal zur Seife Wasser, extrahirt die wässerige Seifenlösung einmal mit Aether, so bleibt nach Verdunsten desselben ein sehr kleiner Rückstand einer braungelben, wachsartigen Masse; schüttelt man zum zweiten Male aus, so erhält man nur noch eine Spur von dieser Masse, von welcher eben der grösste Theil fest von der Seife zurückgehalten wird [in dieser Masse ist Cholesterin und Isocholesterin enthalten[2])], setzt man aber zu der alkoholischen Wollfettseifenlösung einfach Aether, dann fällt von vorneherein der grösste Theil der Seife aus, nach viermaligem Ausschütteln der klaren ätherischen Lösung und Abdestilliren derselben bleibt die Gesammt-Quantität der obigen braungelben Masse.

Ich stellte nun, behufs Auffindung einer neuen Methode, weitere Versuche an und mischte Fett mit Cholesterin. Die erhaltene Natronseife mischte ich diesmal mit Sand, um sie auf diese Weise vollständiger zu trocknen, alsdann extrahirte ich das Gemisch längere Zeit im Soxleth-Apparat. Bei dem

[1]) Cf. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIV, Heft 6.

[2]) Cf. Schulze, Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft, 1876.

Trocknen machte ich jedoch die Beobachtung, dass die Seife mit dem Cholesterin zu einzelnen Klümpchen sich vereinigte und nicht zu einem gleichmässigem Pulver zerrieben werden konnte, aus diesem konnte das Cholesterin nur theilweise extrahirt werden. Nun führte ich die Natronseifen durch Behandlung ihrer wässerigen Lösung mit Chlorbaryum in die schwerer löslichen Barytseifen über und behandelte ferner zum gleichen Zwecke das das Cholesterin enthaltende Fett im geschlossenen Rohre bei 100° mit in Methylalkohol gelöstem Baryumhydroxyd, auch diese Methoden lieferten keine genügenden Resultate. Die Barytseifen aus festen Fetten zeigten auch mehrere Klümpchen, die nicht zu pulverisiren waren, die Barytseifen aus flüssigen Fetten waren kaum zu zerreiben, was entschieden davon herrührt, dass das ölsaure Baryum, dazu noch in Verbindung mit Cholesterin, schon bei 100° zusammenbackt[1]).

Die im vorigen Jahre in dieser Zeitschrift (Bd. XIV, S. 599) in Gemeinschaft mit A. Kossel mitgetheilte neue Methode zur Verseifung von Fettsäure-Aethern brachte mich auf neue Wege; ich machte schon damals eine kurze Andeutung über die Wiedergewinnung des Cholesterins aus künstlichen Gemischen von Fett und Cholesterin, sowie dessen Gewinnung aus Eidotter, ferner erwähnte ich die Isolirung des Cholins aus den Zersetzungsproducten des Lecithins. Wenn dieses neue Verseifungsverfahren für die quantitative Bestimmung des Cholesterins in den Fetten Verwendung finden sollte, müsste erst der Nachweis geliefert werden, ob die Verseifung eine vollständige in nicht allzu langer Zeit ist und ob dabei eine Bildung von Triäthylin vor sich geht. Eingehende Versuche hierüber erwiesen, dass die Verseifung in kurzer Zeit bei gewöhnlicher Temperatur eine vollständige ist und eine Bildung von Triäthylin nicht stattfindet (cf. Spätere Mittheilung über die Verseifung mit Natriumalkoholat). Auf Grund dieser Ergebnisse stellte ich nun in folgender Weise meine quantitativen Cholesterinbestimmungen an:

---

[1]) Seifen ohne Cholesterinzusatz lassen sich leicht pulverisiren, insbesondere die Natronseifen.

Je 1 gr. Fett (zunächst Hammeltalg, der heiss filtrirt und bis zum constanten Gewicht bei 120° getrocknet war) wurde mit einer genau abgewogenen Menge Cholesterin zusammen in Aether gelöst und zu dieser Lösung eine Natriumalkoholatlösung hinzugefügt, die durch Auflösen von 0,15 gr. Natrium in einer möglichst geringen Menge von 99 % Alkohol in der Wärme hergestellt war. Man bedarf zu dem letzteren Zwecke nur 1—1½ cbcm. Alkohol, die Masse muss beim Erkalten schnell erstarren, so hat man die beste Concentration der Natriumalkoholatflüssigkeit, beim Eingiessen in die ätherische Flüssigkeit verschwindet das Natriumalkoholat nach kurzem Schütteln und es beginnt zugleich die energische Verseifung, die nach dreistündigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur beendet ist. Die zugesetzte Menge Aether muss so gross gewählt werden, dass die ausgeschiedenen Seifen beim Umschwenken des Kolbens, in welchem man den Process vornimmt, einen nicht zu dicken Brei bilden, es bleiben sonst an den Wandungen Seifenreste mit Fett hängen, 80 cbcm. werden im Allgemeinen ausreichen, bei 50—60 cbcm. tritt ferner eine Gelbfärbung des Aethers ein, welche allerdings durch Auskochen der Lösung mit guter Thierkokle zu beseitigen ist (dass durch Thierkohle ein Verlust an Cholesterin stattfindet, konnte nicht nachgewiesen werden), aber auf einfacherem Wege durch Mehrzusatz von Aether entfernt werden kann. Oefteres Umschwenken ist zu empfehlen, hauptsächlich aber bei ölsäurereichen Fetten, weil die Seife hier leicht in langen dickfädigen Massen ausgeschieden wird, so beim Olivenöl; bei festen Fetten, wie Hammeltalg, zeigt die Seife ein feinkörniges Aussehen. Nach dreistündigem Stehen bringt man die Seife auf ein Filter, saugt schwach ab und wäscht unter vorsichtigem Durchrühren mit einem Glasstabe mit Aether gehörig aus. (Die erhaltene Seife löst sich klar in heissem Wasser, wenn sie gut ausgewaschen ist, im andern Falle enthält sie noch Cholesterin.) Diese Operation geht bei richtigem Verfahren sehr schnell von statten und erfordert höchstens noch 150 cbcm. Aether, welche aber durch Abdestilliren wieder zu gewinnen sind. Hat man nun möglichst

wasserfreien Aether gewonnen, so scheidet sich auf's Neue eine kleine Quantität Seife aus, welche man durch Filtration entfernen kann; diese Ausscheidung zeigt sich schon bei einem Aether, welcher zwei Tage mit Chlorcalcium vermischt gestanden hat, das Filtrat fängt man in einem Kolben auf, destillirt den Aether ab, entfernt, bei festen Fetten (cf. unten) die noch zurückbleibende Menge Alkohol durch Aussaugen der Luft aus dem Kolben unter Eintauchen desselben in ein siedendes Wasserbad und trocknet schliesslich den Inhalt bei 100—120°. Nun wird dieser Rückstand mit möglichst wenig absolutem Aether (höchstens 10 cbcm.) übergossen, einige Stunden stehen gelassen und dann, wenn ein sichtbarer Rest ungelöst geblieben ist, von diesem durch Filtration getrennt. Das Filtrat liefert nach dem Abdunsten und kurzem Erhitzen auf 120° das Cholesterin in wägungsfähigem Zustande.

Die Resultate der Fundamental-Versuche sind nun folgende:

Angewandt 1 gr. Fett, 0,15 gr. Na, 5 cbcm. Alkohol und 80—100 cbcm. Aether.

Versuch		Angewandtes Cholesterin		erhalten	
Versuch	I.	Angewandtes Cholesterin	0,1030,	erhalten	0,1044.
»	II.	»	0,1049,	»	0,1025.
»	III.	»	0,0963,	»	0,0982.
»	IV.	»	0,0814,	»	0,0829.
»	V.	»	0,1237,	»	0,1250.
»	VI.	»	0,1310,	»	0,1320.
»	VII.	»	0,0762,	»	0,0771.
»	VIII.	»	0,0792,	»	0,0819.
»	IX.	»	0,0675,	»	0,0692.
»	X.	»	0,1206,	»	0,1224.

Blinder Versuch, 1 gr. Fett, 0,15 Na und 5 cbcm. Alkohol.

A. Rückstand 0,00140 }
B. » 0,00120 } Mittel 0,0013.

Bringt man bei den erhaltenen Resultaten die Durchschnittszahl 0,0013, welche die beiden blinden Versuche lieferten, in Abzug, so erhält man Differenzen in der vierten Decimalstelle.

Mit Ausnahme des 6. und 7. Versuches zeigen die Resultate, dass Cholesterin nicht verloren geht. Nicht so günstig fielen die Resultate bei Anwendung von Olivenöl aus:

Angewandt wurde 1 gr. Oel, 0,25 Na.

Blinde Versuche: I.	Rückstand .	0,0058	Im Mittel 0,0055.	
II.	» .	0,0052		
Versuch I.	Angewandtes Cholesterin	0,0837,	erhalten	0,0932.
» II.	» »	0,1073,	»	0,1138.
» III.	» »	0,0927,	»	0,1002.
» IV.	» »	0,1035,	»	0,1164.

Diese Resultate zeigen einen erheblichen Unterschied von den oben angeführten, bei welchen Hammeltalg angewandt wurde. Es liegt unfehlbar am ölsauren Natron, dass sich hier schon Differenzen in der dritten Decimalstelle zeigen.

Wie weit nun auch die Ueberführung in die Barytseife verbessernd auf die Resultate einwirkt, zeigt nachstehender Versuch, welchen ich in der Art anstellte, dass ich den von der Seife abfiltrirten ätherischen Auszug zunächst bis zum letzten Aetherrest eindunstete, Alkohol hinzufügte und mit $Ba(OH)_2$ kochte (durch Anwendung einer alkoholischen Barytlösung wird ein Zusammenbacken der Barytseifen vermieden).

Versuch IV lieferte hierbei 0,1151 Cholesterin, ebenfalls kein brauchbares Resultat.

Ich glaube durch die obigen Versuche klar gelegt zu haben, dass nur bei festen Fetten einigermassen zufriedenstellende Resultate mittelst dieser Methode zu erwarten sind.

Im Folgenden möchte ich nun eine andere, wesentlich neue Methode beschreiben, welche ich in der letzten Zeit im Dr. C. Scheibler'schen Laboratorium (R. Fiebig) ausgeführt habe.

Wislicenus und Moldenhauer zeigten zuerst, dass das Cholesterinmolekel 2 Atome Brom addirt. Mit den bromirten Verbindungen des Cholesterins, insbesondere den bromirten Estern desselben, habe ich mich, hierdurch angeregt, schon früher beschäftigt[1]), auch noch weitere bromirte Ester, wie die der Bernsteinsäure und Phtalsäure u. s. w., her-

[1]) Cf. Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XV, S. 45.

gestellt und dabei auf's Neue diese Bromaufnahme bestätigt gefunden. Bei meinen Untersuchungen über die Eigenschaften des Isocholesterins, im Vergleich zum Cholesterin, habe ich die beiden Körper bromirt, zunächst um den Schmelzpunkt der beiden Br-haltigen Körper zu ermitteln; zur Darstellung des Cholesterinbromids verwandte ich etwa 10 gr. Cholesterin, die rasche und energische Aufnahme von Brom seitens des Cholesterins wurde mir hierbei auf's Deutlichste sichtbar, und so fing ich an, das Cholesterin durch Anwendung von Brom zu bestimmen.

Ich mischte wieder 1 gr. Olivenöl mit einer genau abgewogenen Menge Cholesterin, verseifte dasselbe, verfuhr hierbei wie oben angeführt, alsdann löste ich den Rückstand im Schwefelkohlenstoff und setzte so lange von einer bromhaltigen Schwefelkohlenstofflösung von bestimmtem Gehalt zu, bis eine in's Gelbroth stechende Farbenerscheinung auftrat. Die Anwendung einer 2,97 % Br-Lösung ergab folgende Resultate:

Versuch I.	Angew.	Cholesterin	0,0999, erhalten 0,0987, 1,38 cbcm. von der bromhaltigen Schwefelkohlenstofflösung ($BrCS_2$) verbraucht.
» II.	»	»	0,0896, erhalten 0,0894, 1,25 cbcm. $BrCS_2$ verbr.
» III.	»	»	0,1463, erhalten 0,1467, 2,05 cbcm. $BrCS_2$ verbr.
» IV.	»	»	0,1130, erhalten 0,1123, 1,57 cbcm. $BrCS_2$ verbr.
» V.	»	»	0,1835, erhalten 0,1835, 2,57 cbcm. $BrCS_2$ verbr.
» VI.	»	»	0,0672, erhalten 0,0679, 0,95 cbcm. $BrCS_2$ verbr.
» VII.	»	»	0,0612, erhalten 0,0607, 1,85 cbcm. $BrCS_2$ verbr.
» VIII.	»	»	0,0732, erhalten 0,0727, 1,02 cbcm. $BrCS_2$ verbr.
» IX.	»	»	0,1042, erhalten 0,1036, 1,45 cbcm. $BrCS_2$ verbr.
» X.	»	»	0,1543' erhalten 0,1537, 2,15 cbcm. $BrCS_2$ verbr.

Ich hatte zuerst auch Versuche mit in Chloroform gelöstem Brom angestellt, doch fand ich, dass nach kurzem Schütteln eine Entfärbung unter Rauchentwickelung eintrat, Chloroform wird also nicht für den vorliegenden Fall zu verwerthen sein; Versuche, das Gemisch von Fett und Cholesterin gleich im Schwefelkohlenstoff zu lösen, habe ich nicht angestellt, bezweifle aber, gute Resultate zu erhalten, ohne das Fett verseift zu haben; einerseits wäre man hier genöthigt, mehr Schwefelkohlenstoff anzuwenden, andererseits haben manche Fette, so ganz besonders die Thrane, die Eigenschaft, eine bromhaltige Schwefelkohlenstofflösung sofort zu entfärben, je weniger man auch Schwefelkohlenstoff anwendet, desto schärfer tritt der Uebergang von gelb in gelbroth hervor, bei obigen Versuchen hatte ich 1,5—2 cbcm. Schwefelkohlenstoff, ein Verlust an Cholesterin ist überdies bei der Verseifung mit Natriumalkoholat nicht zu constatiren. Wie sich das Brom anderen dem Cholesterin ähnlichen Körpern gegenüber verhält, ist noch nicht bekannt, beim Isocholesterin konnte ich feststellen, dass dasselbe ebenfalls 2 Br aufnimmt; es würde interessant sein zu erfahren, wie Brom auf das Phytosterin, Caulosterin und Ambrain einwirkt.

Nach meinem Abschluss der oben beschriebenen Versuche theilt mir indess Herr Prof. Kossel mit, dass in seinem Laboratorium seit einiger Zeit ebenfalls Versuche zur volumetrischen Bestimmung des Cholestrins mit Brom angestellt werden, und dürfen wir demnach einer weiteren Vervollständigung dieser Methode entgegensehen.

Berlin, August 1891.

Kuno Obermüller.

Zur Kenntniss der Verseifung mittelst Natriumalkoholat.

Von

Kuno Obermüller.

(Der Redaction zugegangen am 21. August 1891.)

Im Juli vorigen Jahres veröffentlichte ich in dieser Zeitschrift (Bd. XIV, S. 599) in Gemeinschaft mit A. Kossel, vorläufige Angaben über eine neue Methode zur Verseifung von Fettsäureäthern mittelst Natriumalkoholat.

Ueber das Wesen dieses Processes waren wir in Folge der auffallenden Thatsache, dass bei demselben kein Glycerinäther gebildet wird, wie man es erwarten sollte, im Unklaren. Wird der Versuch mit möglichst wenig Alkohol und grösseren Mengen Aether ausgeführt, so geht ausser geringen Spuren von Seife kein anderer Körper in den von der Seife abfiltrirten Aether über, falls nicht das für die Verseifung angewandte Fett etwa in Aether lösliche Alkohole, Paraffine u. dergl. nicht verseifbare Substanzen enthält. Dagegen konnte bei den verschiedensten Fetten, wie Hammelfett, Rinderfett, Olivenöl, das Auftreten von Glycerin nachgewiesen werden, welches sich durch Auflösen der vom Aether befreiten Seife im Wasser, Abscheiden der Fettsäuren mittelst Salzsäure, Verdunstung der neutralisirten wässerigen Flüssigkeit und Ausziehen des Rückstandes, mit Alkohol absolut. leicht in fast reinem Zustand herstellen liess (bei flüssigen Fetten, wie Olivenöl, Fischthran, setzte ich zu den abgeschiedenen Fettsäuren Paraffin wegen ihrer Flüssigkeit). Der nach dem Verdunsten des Lösungsmittels verbleibende gelb gefärbte dickflüssige Rückstand zeigte den brennend süssen Geschmack

des Glycerins und die Reaction desselben mit Phenol (H_2SO_4), ich erhitzte die gelbe syrupartige Masse mit dem gleichen Quantum Phenol und dritten Theil Schwefelsäure eine halbe Stunde in einem Paraffinbade auf 120—130° und erhielt eine dunkelrothe Masse, welche in Wasser wenig mit bräunlichgelber Farbe, in Alkalien hingegen leicht mit rother Farbe löslich war, eine Reaction, welche auf Bildung von Glycerin (C. Reichel, Berl. Ber., 1876, Bd. IX, S. 1429) zurückzuführen ist. Um jedoch das Vorhandensein von Glycerin noch deutlicher zu bestätigen, benzoylirte ich den Rückstand nach der Baumann'schen Methode in der von R. Diez (diese Zeitschrift, 1887, Bd. XI, S. 472) angegebenen Weise und unterwarf das erhaltene Product der Elementaranalyse, wobei sich folgende Zahlen ergaben, welche für ein Gemisch von Di- und Tribenzoicin stimmen:

Analyse.

I. 0,2212 Estergemenge gaben 0,5635 CO_2 und 0,1008 H_2O.
II. 0,2103 » » 0,5635 » » 0,0960 »

	Berechnet für		Gefunden:	
	$C_{17}H_{16}O_5$:	$C_{24}H_{20}O_6$:	I.	II.
C	68,00	71,29	69,43	69,13.
H	5,33	4,95	5,06	5,04.

Ich hatte 0,4 gr. von der syrupartigen gelben Masse mit 40 gr. Wasser vermischt und diese mit 10 cbcm. Benzoylchlorid und ca. 70 cbcm. 10% Natronlauge 10 Minuten unter Abkühlung geschüttelt, sobald der Geruch nach Benzoylchlorid verschwunden war, den Niederschlag auf einem bei 100° getrockneten Filter behandelt. Ebenso lieferten mir die Wachsarten die entsprechenden Alkohole und bei meinen Arbeiten über das Cholesterin, resp. Isocholesterin, erhielt ich durch Verseifung der Benzoesäureester des Cholesterins resp. Isocholesterins nach der Natriumalkoholat-Methode ebenfalls die freien Alkohole in ganz reiner Form.

Inzwischen ist die Aufklärung des Processes durch eine im März erschienene Arbeit von Kossel und Krüger, über die Verseifung von Estern durch Natriumalkoholat (diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 321) gefördert worden.

Kossel und Krüger brachten die Frage der Verseifung in Zusammenhang mit Versuchen, welche Claisen früher schon über die Bildung von Additionsproducten zwischen Natriumalkoholaten und aromatischen Estern, wobei ein Austausch der Alkoholradicale stattfindet, angestellt hat; in der That erhielten sie aus dem Hammeltalg mittelst Natriumäthylat und -Amylat ein Gemenge der Aethyl- resp. Amylester der Palmitin- und Stearinsäure.

Sie erhielten aus 33 gr. Hammeltalg 15 gr. Aethylester und 12,7 gr. Amylester und verwandten bei der Verseifung gegen 260 cbcm. Alkohol. Das von Claisen angenommene intermediäre Additionsproduct haben sie jedoch nicht zu isoliren vermocht, ebenso äussern die beiden Autoren sich nicht über den weiteren Verlauf des Processes bis zur Bildung der Seife; dieser Theil bleibt also zunächst noch unaufgeklärt.

Mir scheint, dass hier zwei theoretische Möglichkeiten vorliegen, nämlich erstens, dass das Anfangs entstehende Glycerinnatrium[1]) sich mit dem überschüssigen Alkohol zu Glycerin und Natriumäthylat umsetzt und letzteres abermals auf den gebildeten Fettsäureester in der Weise einwirkt, dass sich Natronseife und — Aethyläther bildet. Die Unwahrscheinlichkeit einer derartigen Annahme liegt wohl auf der Hand und es ist mir auch nicht gelungen, bei Wiederholung der Versuche von Kossel und Krüger ein Auftreten von Aethyläther nachzuweisen; da der Aethyläther wegen seiner Leichtflüchtigkeit schwer nachzuweisen wäre, verseifte ich Hammeltalg mit Natriumamylat unter Zusatz von Amylalkohol, um so den weit höher siedenden Amyläther zu erhalten; eine Bildung von Amyläther konnte ich jedoch nicht erhalten; es bleibt daher nach meiner Meinung nur übrig, dass man zur Erklärung des Processes den Wassergehalt der angewendeten Agentien mit in Betracht zieht. Die beiden Autoren sprechen nur kurz von absolutem Alkohol, worunter bekanntlich nicht allein der wirklich absolute, also 100%,

[1]) Bei der erwähnten Abhandlung steht anstatt dessen S. 324 in Folge eines Druckfehlers «Glycerin».

sondern auch der Alkohol von 99,8 und häufig nur 99,5—4 verstanden wird.

Bei Anwendung solchen Alkohols ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass sich diejenige Quantität Wasser in dem Reactionsgemisch befindet, welche zur Zerlegung des Fettsäureesters nothwendig ist, wobei man den ganzen Process als eine Verseifung durch Natronhydrat in alkoholischer (oder nach der von mir angegebenen Weise) in alkoholisch ätherischer Lösung ansehen könnte. Mit dieser Frage habe ich mich nun weiter beschäftigt und glaube durch Anstellung der folgenden Versuche zu einem endgültigen Resultat gelangt zu sein.

Wie oben erwähnt, konnten Kossel und Krüger durch Verseifung von Hammeltalg bei Anwendung von überschüssigem Alkohol den Palmitin-Stearinsäure-Aethylester gewinnen; sie fanden, dass in verdünnten Lösungen eine grössere Ausbeute an dem Estergemisch zu erzielen ist als in concentrirten, dass diese nach längerer Einwirkung des Natriumalkoholates abnimmt und sich nach 12stündiger Einwirkung kein Ester mehr vorfindet. Es liegt auf der Hand, dass der überschüssige Alkohol den Verseifungsprocess verlangsamt, schon durch das Vorhandensein von mehr Wasser, man hat Zeit, den Fettsäureäthylester zu isoliren; eine Esterbildung geht jedoch unter allen Umständen, sei es in verdünnten, sei es in concentrirten Lösungen vor sich. Den Beweis hierfür liefert uns die Verseifung des Cocosnussfettes, welches vielleicht am leichtesten und schnellsten zu verseifen ist; die Aethylester der in ihm enthaltenen Fettsäuren liefern den angenehm nach gutem Wein riechenden Oenantäther; eine geringe Quantität desselben ist zu seiner Erkennung erforderlich. Bei der Verseifung von Cocosnussfett mittelst Natriumalkoholat in möglichst concentrirter Lösung konnte ich den Geruch nach Oenantäther constatiren.

Bemerkenswerth sind folgende Resultate, welche ich betreffs der Geschwindigkeit des Verseifungsprocesses bei Anwendung anderer gebräuchlicher Alkohole wie Methyl- und Amylalkohol erhielt: die Verseifung mit Aethylalko-

holat verläuft am schnellsten, in der Mitte steht, unter gleichen Verhältnissen wie sonst gemacht, die mit Amylalkoholat und am langsamsten verläuft diejenige mit Methylalkoholat. Mit ganz entsprechender Geschwindigkeit verläuft eine Einwirkung des Glycerins auf die drei Alkohole. Beim Vermischen desselben mit Aethylalkoholat entsteht sofort ein dicker Niederschlag von Glycerinnatrium, bei Amylalkoholat (in gleicher Concentration) tritt der Niederschlag nach 10 Minuten allmälig wachsend, bei Methylalkoholat erst im Laufe eines Tages ein.

Das erste Stadium des Verseifungsprocesses ist wohl nach diesen Erfahrungen mit grosser Wahrscheinlichkeit als eine einfache Wechselzersetzung zwischen Alkoholat und Fett anzusehen, wobei die Unlöslichkeit des entstandenen Glycerinnatriums die eigentliche Ursache ist, wesshalb der Process so schnell verläuft.

Fettsaures Glycerin + Natriumalkoholat
= Glycerinnatrium + Fettsäureäthylester.

Die Bildung von Glycerinnatrium ist vor sich gegangen, dagegen (cf. oben) ein Vorhandensein von Aether nicht nachzuweisen, nachdem alles Fett verseift ist; es leuchtet demnach die gänzliche Unmöglichkeit ein, dass das Glycerinnatrium sich mit dem anwesenden Alkohol abermals zu Alkoholat und Glycerin verbindet und so ein umgekehrter Verlauf der Reaction eintritt. Dagegen wird Glycerinnatrium sehr leicht durch Wasser zersetzt (in Glycerin und Natronhydrat). Das Natronhydrat wird also den Process zu Ende führen, um so leichter, als es nur noch auf Fettsäure-Aethylester und nicht mehr auf Fett einzuwirken hat.

Die zur Verseifung von 1 gr. Fett erforderliche Quantität Wasser beträgt 0,06 gr.; betrachtet man die Versuche, über welche Kossel und Krüger (siehe diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 327 u. 328) mittheilen, und nimmt man an, sie hätten 99,4—99,5% Alkohol gehabt, so würde dieser die hinreichende Menge Wasser geliefert haben, die zur Bildung von Natriumhydrat und einer hierdurch veranlassten Seifenbildung erforderlich wäre, erwärmt man ausserdem in einem offenen

Gefässe auf einem Wasserbade, so nimmt der Alkohol mit Leichtigkeit Wasser auf, jedenfalls so viel, als zur Verseifung nöthig ist; durch Aufsetzen eines Kühlers, wie die obigen Autoren angaben, kann man indess eine vollständige Verseifung verhindern (cf. S. 327). Setzt man auf den Kühler noch ein Chlorcalciumrohr, so wird die Verseifung noch unvollständiger; es wird eben dadurch dem Alkohol die Möglichkeit genommen, Wasser aus der Luft anzuziehen.

Die Herstellung von absolutem Alkohol, seine Anwendung als solcher ist mit grosser Schwierigkeit verbunden; er nimmt begierig Wasser auf und enthält bald 0,3—0,6 Volumprocent davon; ob ein Alkohol 99,4 oder 99,5% hat, ist ebenfalls nicht leicht zu ermitteln; ich stellte daher folgenden Versuch an, den ich ausführlich beschreiben möchte;

Den besten und höchstprocentigen Alkohol, den ich bekommen konnte, liess ich 14 Tage über gebranntem Kalk stehen, dann destillirte ich ihn ab. Einen Liebig'schen Kühler verband ich an einem Ende mit einem Rundkolben und als Vorlage am anderen Ende mit einem Tubus, in welchen ein Chlorcalciumrohr gesteckt war; alle Theile waren gut mit Korkstopfen in einander gefügt, nur durch das Chlorcalciumrohr konnte Luft hinzutreten; zunächst erwärmte ich den Rundkolben eine halbe Stunde und liess ihn wieder erkalten; alsdann gab ich in den Rundkolben rasch 80 cbcm. von dem Alkohol, welcher 14 Tage über gebranntem Kalk gestanden hatte und destillirte, bei 78,3° dem Siedepunct des 100% Alkohols, ging $^1/_3$ über, die übrigen $^2/_3$ bei höheren Temperaturen, bei 79,5 waren gegen 70 cbcm. übergegangen; nun liess ich wieder erkalten, nahm schnell den Rundkolben ab und setzte hierfür ein langes Chlorcalciumrohr ein, stellte den Kühler vertikal (Tubus nach unten), entfernte wieder das Chlorcalciumrohr und gab rasch durch den Kühler circa 4,5 gr. Fett und 1 gr. Natrium hinzu; bei drei Versuchen, die ich in dieser Weise anstellte, blieben nach halbstündigem Kochen durchschnittlich 1,3 gr. Fett unverseift.

Bei der von Kossel und mir (siehe diese Zeitschrift, Bd. XIV, S. 599) seiner Zeit angegebenen Verseifungsmethode

ist nur so viel Alkohol angewandt, als zu der Bildung des Natriumalkoholats erforderlich ist; das übrige der Lösung ist Aether, in welchem das Fett enthalten ist. Der Verseifungsprocess geht auf diese Weise bei gewöhnlicher Temperatur vor sich, die Verseifung ist eine vollständige und durch Kochen kann hier ebenfalls eine Beschleunigung herbeigeführt werden, der Process geht dann noch rascher vor sich, ja bei gewissen Fetten, wie Cocosnussfett, Butter, in wenigen Sekunden; meine Versuche ergaben, dass sein Verlauf der gleiche ist, wie bei alleiniger Anwendung von Alkohol; verreibt man einige Sekunden, nachdem die Verseifung des Cocosnussfettes begonnen hat, den Aether auf der Handfläche, so tritt ein starker Geruch nach Oenantäther auf, überhaupt riecht der ganze Aether nach demselben; bei Anwendung von viel Aether wird die Verseifung verlangsamt und man kann die Fettsäureäthylester gewinnen.

Eine Verseifung kommt nun auch zu Stande, wenn man in die ätherische Fettlösung ein Stück blankes metall. Natrium gibt, ist der Aether wasserfrei und verschliesst man das Gefäss, in welchem sich die ätherische Fettlösung befindet, so erfolgt keine Ausscheidung von Seife; hier wirkt also lediglich die Natronlauge, welche sich aus metall. Natrium und dem im Aether enthaltenen Wasser gebildet hat.

In wieweit die Methode mit Natriumalkoholat und Aether geeignet erscheint, die Verseifung als eine durch den Wassergehalt der vorhandenen Agentien verursachte zu erklären, mögen noch folgende Versuche zeigen.

Ich liess den für Laboratoriumszwecke gebrauchten Aether einige Tage über Chlorcalium stehen und destillirte ihn über Natrium ab. In einem Rundkolben wurde 1 gr. Fett in 70 cbcm. dieses Aethers gelöst und in der üblichen Weise Natriumalkoholat zugesetzt, der Kolben verschlossen, die Verseifung war eine unvollständige; 1 gr. Fett wurde in 20 cbcm. gewöhnlichem Aether gelöst, die erforderliche Menge Natriumalkoholat hinzu gegeben, trotzdem dass das Reactionsgemisch mehrere Stunden geschüttelt wurde, trat keine vollständige Verseifung ein, erst nach Zusatz von weiteren 40 cbcm.

des Aether war der Process beendigt. Ist nicht genügend Aether vorhanden und setzt man zu der ätherischen Fettlösung das Natriumalkoholat, so entsteht sofort ein dünnflüssiger Brei einer rothbraunen Masse, setzt man Wasser hinzu, so wird das Ganze zu einer hellbraunen trüben Flüssigkeit, aus welcher durch vorsichtiges Schütteln mit Aether das unverseifte Fett, welches eben jene Trübung hervorbringt, erhalten werden kann.

Nach all' diesen Resultaten glaube ich wohl die Ansicht aussprechen zu dürfen, dass es schliesslich das Wasser ist, welches den Verseifungsprocess zu Stande bringt. Der ganze Process theilt sich in zwei Stadien: zunächst erfolgt erstens eine Bildung von Glycerinnatrium und Fettsäureäthylester, welcher leichter verseifbar ist als Fettsäure-Glycerinester oder Fett, auf ihn wirkt zweitens Natronlauge ein, welche durch Zersetzung des im ersten Stadium gebildeten Glycerinnatriums durch vorhandenes Wasser entstanden ist.

Berlin, August 1891.

Kuno Obermüller.

Zur Kenntniss des Adenins.

Von

Dr. Martin Krüger.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 13. October 1891.)

Durch Herrn Professor Kossel bin ich veranlasst worden, die von ihm schon vor längerer Zeit angefangenen Versuche zur Ermittelung der Constitution des Adenins und Hypoxanthins, welche damals wegen Mangel an Material und Uebernahme anderer Arbeiten abgebrochen werden mussten, fortzusetzen. Die von Professor Kossel an sehr kleinen Mengen von Adenin ausgeführten Experimente hatten zunächst den Zweck, das Verhalten der Base gegen spaltende, oxydirende und reducirende Mittel kennen zu lernen, um auf diese Weise einen bequemen Weg zur Lösung der gestellten Frage zu finden. Die erhaltenen Resultate, welche die Grundlage für die weitere Untersuchung bilden sollen, sind zum Theil schon früher[1]) mitgetheilt, und ich werde den mir gütigst zur Verfügung gestellten Rest an den geeigneten Stellen zur Kenntniss bringen. Herrn Professor Kossel bin ich für die Anregung zu dieser Arbeit und vor Allem für die Ueberlassung dieses interessanten Themas zu grossem Danke verpflichtet.

Die Kenntniss der Basen der Harnsäuregruppe, Guanin, Xanthin, Adenin und Hypoxanthin, beansprucht in neuerer Zeit vom physiologischen Standpunct ein erhöhtes Interesse, seitdem A. Kossel die grosse Bedeutung gezeigt hat, welche

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 248.

dieselben für die physiologischen Functionen der Zellkerne haben müssen. Die genannten, von Kossel als Nucleïnbasen bezeichneten, Substanzen sind von ihm zuerst als Zerfallproducte der Nucleïne erkannt worden, und in der letzten Zeit ist ihm der Nachweis gelungen, dass dasjenige Zerfallsproduct der Nucleïne, welches man als Nucleïnsäure bezeichnet, als Muttersubstanz der erwähnten Basen anzusehen ist[1]). Die Untersuchungen über die Mengenverhältnisse und die Verbreitung der Nucleïnbasen haben den Zusammenhang mit dem Zellkern durchaus bestätigt. Xanthin und Guanin sind nun besonders durch die Untersuchungen von E. Fischer als nahe Verwandte der Harnsäure erkannt worden; mithin müssen die Untersuchungen von Kossel als eine Grundlage für die weitere Forschung über die Bildung der Harnsäure im thierischen Organismus angesehen werden. Der vermuthete genetische Zusammenhang zwischen Harnsäure und Nucleïnbasen würde eine wesentliche Stütze erhalten, falls es gelingen sollte, auch Adenin und Hypoxanthin als Angehörige der Harnsäuregruppe zu erkennen.

Da für die Untersuchung des Adenins und Hypoxanthins voraussichtlich grosse Mengen der Körper nöthig sein werden, so musste von vornherein von einer Darstellung des Hypoxanthins, für welches ein geeignetes Ausgangsmaterial fehlt, Abstand genommen werden, und es blieb nur übrig, Adenin in grösseren Mengen darzustellen, welches ja nach Kossel in der Theelauge in ziemlich bedeutender Menge vorhanden ist, etwa 3—6 gr. in einem Liter. Das Theeextract wurde von Herrn Dr. Fr. Witte in grossen Mengen zur Verfügung gestellt.

Zur Isolirung des Adenins aus dem Theeextract habe ich die frühere Methode[2]) modificirt und ein Verfahren eingeschlagen, nach welchem das Trocknen des Silberniederschlages auf porösen Thonplatten und das Umkrystallisiren desselben aus heisser Salpetersäure vermieden wird. Je 1 Liter

---

[1]) E. du Bois-Reymond's Arch. f. Physiologie, Physiol. Abth., 1891, S. 1881.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 251 u. 262.

des Extractes wird zunächst, wie früher, mit Wasser auf das 5fache Volumen verdünnt und zur Ausfällung der Huminsubstanzen mit 1/2 Liter Schwefelsäure (1 Theil conc. H_2SO_4 und 5 Theile H_2O) versetzt. Der innerhalb mehrerer Stunden sich gut absetzende Niederschlag wird von der Hauptmenge der überstehenden Flüssigkeit durch Abgiessen, von dem Reste durch Filtriren befreit. Aus dem mit Ammoniak stark alkalisch gemachten Filtrate werden die Basen durch ammoniakalische Silberlösung ausgefällt. Der ausserordentlich voluminöse Niederschlag wird nach 24 Stunden durch Faltenfilter aus starkem Papier filtrirt (Colirtücher empfehlen sich nicht), zunächst mit kaltem, dann mit heissem Wasser gewaschen, bis die Filtrate nur noch gelb gefärbt sind. Man lässt die Niederschläge noch längere Zeit, etwa 1—2 Tage, auf den Filtern, um sie dann besser und vollständiger abnehmen zu können. Die so erhaltenen, noch stark feuchten Silberverbindungen werden jetzt mit Salzsäure[1]) zersetzt. Man erwärmt zu dem Zwecke in grossen, etwa 2 Liter fassenden Bechergläsern 100 cbcm. Wasser mit der zur Zersetzung nöthigen Menge an Salzsäure und trägt in kurzen Zwischenräumen unter Umrühren die Silberverbindungen ein. Nach wenigen Minuten Erwärmens in heissem Wasserbade ist die Umsetzung beendet, und die salzsaure Lösung der Basen lässt sich sehr gut vom AgCl-Niederschlage abgiessen. Zur Wiedergewinnung des Silbers für weitere Fällungen reducirt man das Chlorsilber am besten durch Zink und Salzsäure. Die stark gefärbte Lösung der Basen wird nach Neutralisation mit Natronlauge durch Thierkohle, so weit es geht, entfärbt und eingedampft. Der in der Kälte sich ausscheidende Krystallbrei wird mit Hilfe einer Saugvorrichtung abfiltrirt und mehrmals mit Wasser gewaschen. Auf diese Weise wurden aus 50 Litern Theeextract 361 gr. Rohproduct erhalten. Die mit Ammoniak schwach alkalisch gemachten Mutterlaugen setzten nach einiger Zeit 59 gr. an freier Base ab und lieferten nach derselben Methode, wie das ursprüngliche Extract behandelt, noch weitere 78 gr. salzsaure Salze, so dass im Ganzen 498 gr. Rohproduct erhalten wurden,

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 533.

welches im Wesentlichen aus Adeninchlorhydrat bestand, verunreinigt durch Huminsubstanzen und Kochsalz. Ferner müssen in dem Präparat die salzsauren Salze der übrigen im Theeextract vorhandenen und durch Silbernitrat fällbaren Basen vorhanden sein.

Zur weiteren Verarbeitung des Rohproductes empfiehlt es sich, je 100 gr. in einem Liter verd. Salzsäure (900 Theile Wasser und 100 Theile 10procentige Salzsäure) zu lösen. Aus der durch Thierkohle entfärbten Lösung scheidet sich beim Erkalten fast reines salzsaures Adenin ab; die durch Eindampfen der Filtrate gewonnenen 2. und 3. Krystallisationen enthalten gleichfalls bis zu 96% Adeninchlorhydrat. Die Adeninbestimmungen wurden nach der von A. Kossel angegebenen, von G. Bruhn's[1]) durch quantitave Analysen erprobten Methode mit Hilfe von Natriumpikrat ausgeführt. Das salzsaure Adenin wurde dann weiter in heissem Wasser gelöst, und die heisse Lösung mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction versetzt. Das freie Adenin scheidet sich zum grössten Theil sofort als rein weisses krystallinisches Pulver aus, welches sich gut zu Boden setzt. Nach 24 Stunden wurden die Krystalle abfiltrirt und nochmals mit heissem ammoniakalischen Wasser behandelt. Aus den 500 gr. Rohproduct wurden so 250 gr. vollkommen reines wasserfreies Adenin erhalten.

Die weiteren Krystallisationen der salzsauren Lösung des Rohproductes, welche sich unter dem Mikroskope als Gemenge verschiedener Salze erwiesen, wurden in Wasser gelöst, und aus dieser Lösung das Adenin mittels Natriumpikrat in der Wärme ausgefällt. Zur Isolirung des Adenins aus grossen Mengen seines Pikrates empfiehlt sich weder die Extraction der Pikrinsäure durch Aether, noch Fällung des Adenins aus ammoniakalischer Lösung des Pikrates mittels Silbernitrat. Am einfachsten gelangt man zum Ziele, wenn man das Pikrat in heissem verd. Ammoniak löst und nach dem Erkalten durch ammoniakalische Kupfersulfatlösung die Hauptmenge der

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 533.

Pikrinsäure ausfällt. Das Filtrat wird zur Vertreibung des Ammoniaks zur Trockne verdunstet, und der Rückstand in verd. Schwefelsäure gelöst. Nach Entfernung des Kupfers durch Schwefelwasserstoff concentrirt man das Filtrat, entfernt, wenn nöthig, die letzten Mengen der Pikrinsäure mit Aether und reinigt das schwefelsaure Adenin durch Umkrystallisiren. Aus diesem wird in der beim salzsauren Salze angegebenen Weise die freie Base gewonnen; die Menge derselben betrug noch 30 gr., so dass im Ganzen aus 50 Litern Theeextract 280 gr. reines Adenin erhalten wurden. Die Mengen an Hypoxanthin und Theophyllin sollen später bestimmt werden.

Die quantitativen Bestimmungen des Adenins mit Hilfe von Natriumpikrat, sowie die Elementaranalysen des erhaltenen Präparates erwiesen die vollkommene Reinheit desselben. Die N-Bestimmungen wurden nach der Kjeldahl-Wilfarth'schen Methode ausgeführt, welche bei so stickstoffreichen Körpern, wie Adenin, die volumetrische Methode an Genauigkeit übertrifft. Die N-Bestimmungen ergaben:

Für 0,2112 gr. Adenin wurden verbraucht 78,02 cbcm. $^{1}/_{10}$-N.-Oxalsäure.
» 0,2121 » » » » 78,22 » » »
» 0,2109 » » » » 77,89 » » »

Gefunden:			Berechnet für $C_5H_5N_5$:
N = 51,72%	51,63%	61,63%	51,85%.

Eigenschaften des Adenins.

Ausser den von Kossel[1]) gefundenen, 3 Molecüle Wasser enthaltenden, Krystallen habe ich das Adenin auch wasserfrei in den unten beschriebenen Formen erhalten.

Das Adenin fällt beim Uebersättigen concentrirter Lösungen seines salzsauren Salzes mit Ammoniak wasserfrei in mikroskopisch kleinen wetzsteinartigen Krystallen aus. Das oben erhaltene Präparat zeigte durchgehends diese Beschaffenheit. Aus heissem Wasser umkrystallisirt erscheint es in etwas grösseren, regelmässig ausgebildeten vierseitigen Pyramiden, welche einzeln liegen oder zu stechapfelförmigen Aggregaten vereinigt sind. Die Krystalle zeigen häufig Zwillings-

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 252.

bildung nach der Basis, seltener sind sie durchwachsen. Die an der Oberfläche sich ausscheidenden Krystalle sind gewöhnlich nur einseitig ausgebildet; sie erscheinen an der Basis durchbrochen und häufig reihenweise, mit der Spitze nach einer Seite liegend, angeordnet. Das Adenin lösst sich, wie bekannt, sehr leicht in Alkalien, in Ammoniak schwieriger wie Hypoxanthin. Aus diesen Lösungen fällt es beim Neutralisiren mit Essigsäure oder beim Einleiten von Kohlensäure wieder aus. Im letzteren Falle erhält man die schönsten und grössten Krystalle des wasserfreien Adenins.

Von weiteren Reactionen des Adenins, welche zur Ergänzung der früher mitgetheilten dienen, seien die folgenden erwähnt:

Wässerige 0,5procentige Lösungen von Adenin geben mit Ferro- und Ferricyankalium auch nach längerer Zeit keinen Niederschlag; nach Zusatz von Essigsäure scheidet sich dagegen innerhalb kurzer Zeit im ersteren Falle ein in dünnen Blättchen krystallisirender Niederschlag aus, im letzteren Falle erscheinen hellbraune zu Drusen vereinigte, zweiflächig zugeschärfte Krystalle.

Eisenchlorid färbt wässerige Adeninlösungen der angegebenen Concentration intensiv roth; beim Erwärmen zeigt die Flüssigkeit keine Veränderung.

Kupfersulfat erzeugt einen amorphen Niederschlag von graublauer Farbe; derselbe löst sich leicht in verd. Säuren und in Ammoniak; seine hellblaue Lösung in fixen Alkalien scheidet beim Ermärmen allmälig Kupferoxyd aus. Zur Analyse wurde eine Kupferverbindung verwendet, welche aus 2 gr. in heissem Wasser gelösten Adenins durch Versetzen mit Kupfersulfat im Ueberschuss erhalten war; der entstandene Niederschlag wurde nach dem Abfiltriren mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen. Die Analyse ergab:

0,382 gr. bei 110° getrocknete Substanz gaben 0,1115 Cu_2S und 0,1642 gr. $BaSO_4$.

0,4059 gr. über H_2SO_4 im Vacuum getrocknete Substanz nahmen bei 110_0 ab um 0,0107 gr. und gaben 0,5548 gr. Adenin-Pikrat.

Gefunden: 2,63 % H_2O.

52,72 % Adenin, 23,31 % Cu, 14,76 % SO_3 (für wasserfreie Substanz).

Die Verbindung enthält auf 2 Atome Cu 1 Molecül SO_3. Nach den Ergebnissen der Analyse lässt sich für dieselbe keine bestimmte Formel berechnen; jedenfalls ist es ein Gemenge von Adenin-Kupfer mit Adenin-Kupfersulfat.

Adeninbichromat.

Adenin mit wässeriger Chromsäurelösung gekocht geht leicht in Lösung, wird aber selbst nach langem Erwärmen nicht verändert. Dagegen scheidet sich in der Kälte ein in 6flächigen Tafeln krystallisirendes Salz, dessen Zusammensetzung der von Bruhns[1]) angebenen Formel entspricht. Die Analyse ergab:

0,4376 gr. gaben mit conc. H_2SO_4 verascht und geglüht 0,1365 Cr_2O_3.
0,3018 gr. gaben 0,2721 gr. CO_2 und 0,0809 gr. H_2O.

Gefunden:	Berechnet für $(C_5H_5N_5)_2 \cdot H_2Cr_2O_7$:
21,39 % Cr.	21,44 % Cr.
24,58 % C.	24,55 % C.
2,98 % H.	2,46 % H.

Die gelbrothen Krystalle des Adeninbichromats lösen sich leicht in heissem Wasser, schwieriger in kaltem. Bis 150° erwärmt bleiben sie unverändert; auf dem Platinblech erwärmt verglimmen sie unter Funkensprühen.

Chloressigsaures Adenin.

Aus einer heissen wässerigen Lösung von Adenin und überschüssiger Chloressigsäure scheidet sich beim Erkalten das chloressigsaure Adenin in rechteckigen Blättchen und in vierseitigen, zu sternförmigen Aggregaten vereinigten Prismen ab. Das Salz ist in Wasser und in heissem wässerigen Alkohol leicht, schwer in kaltem Alkohol löslich. Dieselbe Verbindung entsteht beim Zusammenschmelzen von Adenin und Chloressigsäure auf dem Wasserbade; es findet hierbei keine Abspaltung von Salzsäure statt.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 12.

Die Analyse ergab:

0,3137 gr.	Substanz	gaben	0,3447 gr.	Adenin-Pikrat.
0,2269 »	»	»	0,2546 »	»
0,2471 »	»	»	0,2779 »	»
0,2778 »	»	»	0,3060 »	»
0,3593 »	»	»	0,3209 »	AgCl.
0,2335 »	»	»	0,2080 »	»

Gefunden:	Berechnet für $C_5H_5N_5 \cdot (ClCH_2 \cdot COOH)_2$:
41,53, 42,43, 42,44, 42,11 % Adenin.	41,67 % Adenin.
22,09, 22,03 % Cl.	21,91 % Cl.

Die Verbindung schmilzt bei 162—163° unter reichlicher Abspaltung von Salzsäure zu einer gelbrothen Flüssigkeit, welche sich allmälig intensiv roth färbt.

Spaltung des Adenins durch Salzsäure.

Die früher von A. Kossel ausgeführten Versuche hatten ergeben, dass Adenin bei mehrtägigem Erwärmen mit verd. Salzsäure auf etwa 135° vollständig gespalten wird. Reim Uebersättigen des Reactionsgemisches mit Alkalien entwichen Ströme von Ammoniak und es war mit Hilfe der Isonitrilreaction nachgewiesen, dass Methylamin im alkalischen Destillate nicht vorhanden war.

Es schien von Wichtigkeit, die weiteren Spaltungsproducte bei dieser Einwirkung kennen zu lernen und dieselben womöglich quantitativ zu bestimmen. Denn ebenso wie die von Schmidt und Pressler[1]) angeführten Zersetzungen des Caffeïns, Theobromins und Xanthins durch Salzsäure einen weiteren Beweis für die Richtigkeit der Fischer'schen Formeln erbracht haben, konnte andererseits die Kenntniss der Spaltungsproducte des Adenins — falls dieselben ähnlicher Art sind, wie bei den genannten Basen — wenn auch nicht zur Aufstellung einer bestimmten Adeninformel führen, so doch wenigstens eine grosse Reihe der möglichen Adeninformeln ausschliessen.

Um eine schnellere Zersetzung des Adenins zu erzielen, wurde dasselbe mit Salzsäure vom spec. Gew. 1,19 auf 180—200°

[1]) Ann. der Chem. und Pharm., Bd. 217.

erwärmt; die Spaltung war regelmässig nach 12—14 Stunden vollendet. Bei jedem Versuche wurden nur 0,5—0,7 gr. Adenin mit 10 cbcm. Salzsäure eingeschlossen; bei grösseren Mengen verursacht der hohe Druck leicht ein Zerspringen der Röhren.

Nach dem Erkalten zeigten sich im Reactionsproducte Krystalle von Ammoniumchlorid in grosser Menge. Die Röhren öffneten sich unter starkem Druck und entliessen ein mit bläulicher Flamme brennendes Gas, welches aus Kohlensäure und Kohlenoxyd bestand. Der Nachweis der Kohlensäure geschah in der üblichen Weise; um das Kohlenoxyd nachzuweisen, wurden die Gase über Wasser aufgefangen und nach Absorption des Chlorwasserstoffgases mit Palladiumchlorür geschüttelt; es erfolgte sofort reichliche Ausscheidung von metallischem Palladium.

Durch die weitere Untersuchung sollte zunächst festgestellt werden, wieviel Atome N aus dem Adenin in Form von Ammoniak, resp. Aminen, abgespalten werden. Zu dem Zwecke wurde das Reactionsproduct gewogener Mengen Adenins auf ein bestimmtes Volumen gebracht, aus gemessenen Theilen desselben durch Natronlauge die Basen übergetrieben und im Destillate durch Titration mit $^1/_{10}$-N.-Oxalsäure und $^1/_{10}$-N.-NaOH bestimmt.

Versuche: I. 0,5519 gr. Adenin wurden mit 10 cbcm. HCl zersetzt und das Gemisch auf 250 cbcm. gebracht.

II. 0,5544 gr. Adenin in gleicher Weise behandelt.

1. 50 cbcm. von I. mit NaOH destillirt; das Destillat gebrauchte 32,94 cbcm. $^1/_{10}$-N.-Oxalsäure zur Neutralisation.
2. 50 cbcm. von I. ebenso behandelt; verbraucht 32,72 cbcm. $^1/_{10}$-N.-Oxalsäure.
3. 50 cbcm. von II. ebenso behandelt; verbraucht 33,16 cbcm. $^1/_{10}$-N.-Oxalsäure.

Es waren demnach abgespalten aus:

0,1104 gr. Adenin	46,12 mgr. N	=	41,77 %	N.
0,1104 » »	45,81 » »	=	41,49 »	»
0,1109 » »	46,42 » »	=	41,86 »	»

Diese Werthe entsprechen genau 4 Atomen N im Adeninmolecül, berechnet 41,48 %. Von den 5 Atomen N des Adenins

werden daher 4 in Form von Ammoniak, resp. Aminbasen, abgespalten.

Zur Bestimmung des Verhältnisses von Ammoniak zu Aminbasen wurden die aus bestimmten Theilen der obigen Lösungen (I und II) überdestillirten Basen in Salzsäure aufgefangen, zur Trockne verdunstet und der Rückstand gewogen. Zur Controlle wurde derselbe quantitativ in die Platindoppelsalze übergeführt und in diesen endlich eine Platinbestimmung gemacht.

1. 50 cbcm. von II. gaben 0,1779 gr. salzsaure Salze; aus diesen wurden erhalten 0,7394 gr. Platindoppelsalze.
2. 0,1959 gr. salzsaure Salze aus einer anderen Portion gaben 0,8118 gr. Platindoppelsalze; von diesen enthielten 0,6957 gr. 0,3048 gr. Pt.

Nimmt man an, dass die 4 Atome des Adenins in Form von Ammoniak abgespalten werden, so hätte man aus 50 cbcm. von No. II (entsprechend 0,1109 gr. Adenin) 0,1758 gr. NH_4Cl erhalten müssen (gefunden sind 0,1779 gr.). Ferner hätten 0,1779 gr. NH_4Cl geben müssen 0,7374 gr. Ammonplatinchlorid (gef.: 0,7394). Für 0,1959 NH_4Cl ist berechnet 0,8120 gr. Ammonplatinchlorid (gef.: 0,8118 gr.). Ammonplatinchlorid verlangt (Pt = 194,5) 43,86 % Pt (gef.: 43,81 %).

Es ergibt sich demnach als unzweifelhaft, dass die 4 Atome N in Form von Ammoniak abgespalten werden und in dem Adeninmolecül keine Methylamingruppe vorhanden ist.

Die oben angeführten, auffallend gut stimmenden N-Bestimmungen lassen auf eine vollkommen glatte Spaltung des Adenins durch Salzsäure schliessen. Es wurde daher versucht, durch einfache Bestimmung der Gesammtmenge der nicht flüchtigen Zersetzungsproducte einen Aufschluss über die neben Ammoniak gebildeten Substanzen zu erhalten.

1. 100 cbcm. von No. I, entsprechend 0,2208 gr. Adenin, wurden in einer gewogenen Platinschale zur Trockne verdunstet, zunächst bei 100°, dann bei 125° getrocknet und gewogen; der Rücktand wog 0,5494 gr.
2. 100 cbcm. von No. II, entsprechend 0,2218 gr., gaben 0,5443 gr. Rückstand.
3. 0,6315 gr. Adenin gaben nach der Zersetzung durch HCl 1,5173 gr. Rückstand.

Berechnet man aus diesen Zahlen die Summe der Moleculargewichte der Zersetzungsproducte nach der Gleichung (0,2208 etc.) : (0,5494 etc.) = 135 : x, so ergibt sich aus 1. 336, 2. 331, 3. 324,3.

In den erhaltenen Rückständen müssen nun nach den obigen Versuchen 4 Atome N = 16,67 % des Rückstandes in Form von Ammoniak enthalten sein. Eine Cl-Bestimmung in den 0,5494 gr. Rückstand aus Versuch 1 ergab ferner 1,1991 gr. AgCl = 53,94 % Cl; somit kommen auf 4 Molecüle Ammoniak genau 5 Molecüle Salzsäure. Nach Abrechnung der Summe dieser Molecüle 250,5 von den erhaltenen Zahlen 336 etc. ergeben sich die Werthe 85,5, 80,5 und 73,8, welche annähernd mit dem Moleculargewicht des Glykokolls zusammenfallen. Die höheren Werthe 85,5 und 80,5 erklären sich leicht daraus, dass bei den ersten beiden Versuchen No. I und II die Zeit der Einwirkung der Salzsäure länger war und die Zersetzung bei höherer Temperatur, 240°, stattgefunden hatte; weshalb wohl geringe Mengen der Bestandtheile des Natronglases aufgelöst wurden, welche die Menge des Verdampfungsrückstandes und damit das Moleculargewicht der Zersetzungsproducte erhöhen mussten.

Zum Nachweis des Glykokolls wurde die salzsaure Lösung der Zersetzungsproducte von 3,8 gr. Adenin zur Trockne verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst und so lange mit Bleioxyd in der Wärme unter Durchleiten eines heftigen Luftstromes digerirt, bis keine ammoniakalischen Dämpfe mehr entwichen. Nach dem Erkalten des Gemisches wurde von dem Niederschlage abfiltrirt und aus dem Filtrate durch frisch gefälltes Silberoxyd der Rest der Salzsäure und der in Lösung gegangene Theil des Bleis ausgefällt. Aus der abermals filtrirten Flüssigkeit wurde das Silber durch Schwefelwasserstoff entfernt. Nach dem Eindampfen hinterliess die Flüssigkeit einen syrupartigen, allmälig krystallinisch erstarrenden Rückstand von deutlich süssem Geschmack, welcher die charakteristischen Reactionen des Glykokolls zeigte, Rothfärbung mit Eisenchlorid etc. In Wasser aufgenommen und mit frisch gefälltem Kupferoxydhydrat in der Wärme digerirt,

resultirte eine tief lasurblau gefärbte Flüssigkeit, aus welcher nach hinreichender Concentration durch Alkohol eine in blauen Nadeln krystallisirende Kupferverbindung erhalten wurde.

Das Kupfersalz zeigt beim Trocknen nicht die in Fehling's Handwörterbuch der Chemie angegebenen Eigenschaften des Glykokollkupfers, welches bei 100° leicht ein Molecül Wasser abgeben soll, indem es sich gleichzeitig grün färbt.

Die erhaltene Kupferverbindung gibt erst nach langem Trocknen bei 145—150° die einem Molecül entsprechende Wassermenge ab, behält aber selbst bei dieser Temperatur ihre blaue Farbe. Doch lässt die Analyse derselben keinen Zweifel über ihre Identität mit Glykokollkupfer zu.

1. 0,3710 gr. über H_2SO_4 im Vacuum getrocknete Substanz nahm bei 145—150° ab um 0,0296 gr. H_2O und gab 0,2798 gr. CO_2 und 0,1284 gr. H_2O.
2. 0,2504 gr. Substanz nahm ab um 0,0203 gr. H_2O und gab 0,1875 gr. CO_2 und 0,0846 gr. H_2O.
3. 0,2931 gr. über H_2SO_4 getrocknete Substanz gab 0,1017 gr. Cu_2S.

	Berechnet für $C_2H_5NO_2 + H_2O$:	Gefunden:	
H_2O	= 7,85 %.	7,98 %,	8,11 %.
C	= 20,92 %.	20,53 %,	20,42 %.
H	= 3,49 %.	3,85 %,	3,75 %.
Cu	= 27,64 %.	27,71 %.	

Unter den Zersetzungsproducten des Adenins konnte Oxalsäure niemals nachgewiesen werden.

Die Spaltung des Adenins unter dem Einfluss der Salzsäure erfolgt demnach quantitativ nach der Gleichung:

$$C_5H_5N_5 + 8\,H_2O = 4\,NH_3 + CO_2 + 2\,CH_2O_2 + C_2H_5NO_2.$$

Die Ameisensäure als solche nachzuweisen gelang nicht; man muss annehmen, das sie unter der Wirkung der starken Säure, des Druckes und der hohen Temperatur vollständig in CO und H_2O gespalten ist.

Hypoxanthin, welches wegen seiner leichten Darstellung aus Adenin[1]) durch salpetrige Säure dieselbe Atomgruppirung

[1]) Kossel, diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 258.

haben muss, wird bei gleicher Behandlung auch dieselben Producte, wie Adenin, liefern müssen:

$$C_5H_4N_4O + 7\,H_2O = 3\,NH_3 + CO_2 + 2\,CH_2O_2 + C_2H_5NO_2.$$

Vergleicht man mit diesem Resultate die von Schmidt[1]) für die Zersetzung des Xanthins angegebene Gleichung, so ergibt sich ohne Weiteres die nahe Beziehung, welche zwischen Hypoxanthin und Xanthin, Adenin und Guanin stattfindet:

$$C_5H_4N_4O_2\ (\text{Xanthin}) + 6\,H_2O$$
$$= 2\,CO_2 + CH_2O_2 + 3\,NH_3 + C_2H_5NO_2.$$

Hypoxanthin und Xanthin liefern qualitativ dieselben Zersetzungsproducte; quantitativ unterscheiden sie sich nur dadurch, dass beim ersteren das Verhältniss von $CO_2 : CH_2O_2 = 1 : 2$, beim letzteren das umgekehrte ist.

Zum Schluss will ich noch bemerken, dass auch die Harnsäure[2]) unter dem Einfluss conc. Jodwasserstoffsäure bei 160—170° in Glykokoll, Kohlensäure und Ammoniak gespalten wird.

---

[1]) Annalen der Chemie u. Pharmacie, Bd. 217, S. 311.

[2]) Strecker, Annal. der Chem. u. Pharm., Bd. 146, S. 142.

Weitere Untersuchungen über die Aufnahme des Eisens in den Organismus des Säuglings.

Von

G. Bunge,
Professor der physiologischen Chemie in Basel.

(Der Redaction zugegangen am 26. October 1891.)

In einer früheren Mittheilung[1]) habe ich bereits auf den auffallend geringen Eisengehalt der Milch aufmerksam gemacht. Auf der folgenden Tabelle stelle ich denselben mit dem Eisengehalte der übrigen wichtigsten Nahrungsmittel zusammen. Die meisten Bestimmungen habe ich selbst ausgeführt. Die bisherigen Analysen von Nahrungsmitteln, welche nicht speciell zum Zwecke der Eisenbestimmung ausgeführt wurden, haben fast alle ganz falsche Zahlen für den Eisengehalt ergeben. Ich habe daher nur sehr wenigen Analysen anderer Autoren Vertrauen schenken dürfen. Diejenigen Analysen, bei welchen der Eisengehalt auf die wasserhaltige Substanz berechnet ist, sind nach den im Werke von König[2]) angegebenen Durchschnittswerthen auf die wasserfreie Substanz umgerechnet. Die Nahrungsmittel sind nach aufsteigendem Eisengehalt geordnet.

[1]) G. Bunge, diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 399, 1889.

[2]) J. König, Chemie der menschlichen Nahrungsmittel, Aufl. 3, Berlin 1889.

100 gr. Trockensubstanz enthalten Milligr. Eisen:

Blutserum	0	C. A. Socin[1]).
Weisses vom Hühnerei	Spur	Bunge.
Reis	1,7	Boussingault[2]).
	1,9	Bunge[3]).
Kuhmilch	2,3	Bunge[4]).
Frauenmilch	2,3 – 3,1	Bunge[5]).
Hundemilch	3,2	Bunge[6]).
Weizen	5,5	Bunge.
Kartoffel	6,4	Boussingault.
Erbsen	6,6	C. Schmidt[7]).
Weisse Bohnen	8,3	Boussingault.
Erdbeeren	8,6 – 9,3	Bunge.
Linsen	9,5	Boussingault.
Aepfel	13,2	Boussingault.
Rindfleisch	16,6	Bunge[8]).
Eidotter	10,4—23,9	C. A. Socin[9]).
Spinat	32,7	Bunge.
	39,1	Boussingault.
Schweineblut	226	Bunge[10]).
Hämatogen	290	Bunge[11]).
Hämoglobin	340	Zinoffsky[12]) u. Jaquet[13]).

Man sieht aus diesen Zahlen, dass alle unsere wichtigeren Nahrungsmittel einen viel höheren Eisengehalt haben als die Milch. A priori hätte man das Gegentheil erwarten müssen,

---

[1]) C. A. Socin, diese Zeitschrift, Bd. 15, S, 93, 1891.
[2]) Boussingault, Compt. rend., T. 74, p. 1355, 1872.
[3]) Siehe die Zahlenbelege in dieser Mittheilung unten S. 180.
[4]) Bunge, Zeitschr. f. Biol., Bd. 10, S. 308, 1874.
[5]) Bunge, ebend., S. 316; vergl. Mendes de Leon, Archiv f. Hygiene, Bd. 7, S. 286, 1886.
[6]) Bunge, ebend., S. 303.
[7]) C. Schmidt, siehe E. Wolff, «Aschenanalysen», Berlin 1871, S. 178.
[8]) Bunge, diese Zeitschrift, Bd. 9. S. 61, 1885.
[9]) C. A. Socin, l. c., S. 112.
[10]) Bunge, Zeitschr. f. Biol., Bd. 12, S. 204 u. 206, 1876.
[11]) Bunge, diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 49, 1884.
[12]) Zinoffsky, diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 16, 1885.
[13]) Jaquet, Beitr. z. Kenntniss d. Blutfarbstoffes, Diss., Basel 1889.

weil die Milch für die Ernährung eines wachsenden Organismus bestimmt ist, welcher zum Aufbau der eisenhaltigen Gewebe und Organe mehr Eisen braucht als der ausgewachsene Organismus, der nur den vorhandenen Eisenvorrath zu behaupten hat. Der geringe Eisengehalt der Milch muss um so mehr befremden, als alle anderen anorganischen Nahrungsstoffe in der Milch genau in dem Verhältniss enthalten sind, als der Säugling ihrer zum Wachsthum bedarf. Es sei mir gestattet, nochmals die Zahlen anzuführen, die ich in meiner früheren Mittheilung zusammengestellt habe.

Auf 100 Gewichtstheile Asche kommen:

	Neugeborener Hund:	Hundemilch:
K_2O	11,42	14,98
Na_2O	10,64	8,80
CaO	29,52	27,24
MgO	1,82	1,54
Fe_2O_3	0,72	0,12
P_2O_5	39,42	34,22
Cl	8,35	16,90.

Wenn wir vom Eisengehalt absehen, so ist das relative Verhältniss der übrigen Aschenbestandtheile nahezu das gleiche. Die Zweckmässigkeit dieser Uebereinstimmung ist offenbar darin zu suchen, dass dadurch die grösstmöglichste Sparsamkeit erzielt wird. Der mütterliche Organismus gibt nichts ab, was vom Säugling nicht kann verwerthet werden. Jeder Ueberschuss an einem Bestandtheile wäre verschleudert.

Diese ganze wunderbare Zweckmässigkeit scheint nun aber vollständig vereitelt zu sein durch den geringen Eisengehalt der Milchasche; er ist 6mal geringer als der in der Asche des Säuglings. Somit scheint der mütterliche Organismus von allen anderen anorganischen Bestandtheilen dem Säugling 6mal so viel abzugeben, als er braucht. Nur $^1/_6$ kann zum Aufbau der Organe verwendet werden, $^5/_6$ sind verschleudert!

Wie ich in meiner früheren Mittheilung bereits gezeigt habe, ist die Lösung dieses scheinbaren Widerspruches die, dass der Säugling bei der Geburt einen grossen Eisenvorrath für das Wachsthum seiner Gewebe mitbekommt. Ich habe

dort bereits einige Zahlen angeführt, aus denen hervorgeht, dass der relative Eisengehalt des Säuglings bei der Geburt am höchsten ist und mit dem Wachsthum des Thieres abnimmt. Es kam nun darauf an, diese allmälige Abnahme durch eine längere Zahlenreihe festzustellen. Wäre meine teleologische Betrachtung richtig, so müsste man erwarten, dass der Eisenvorrath, den der Säugling bei der Geburt mitbekommt, gerade in dem Momente erschöpft ist, wo er von der ausschliesslichen Milchnahrung zur eisenreicheren Nahrung übergeht. Die folgenden Zahlen werden zeigen, dass dieses in der That der Fall ist.

Bei der Feststellung dieser Zahlen hat man mit der grossen Schwierigkeit zu kämpfen, dass zur Bestimmung des Eisengehaltes im ganzen Thiere der Inhalt des Verdauungscanales nicht mit darf eingeäschert werden. Derselbe besteht, namentlich nach der Säuglingsperiode, aus Nahrungsresten von sehr verschiedenem Eisengehalt nebst Verunreinigungen: eisenreichem Sand und Staub und Eisenrost — vom Benagen der Eisenstäbe des Käfigs herrührend — und enthält ausserdem noch in den Darm ausgeschiedenes Eisen. Will man den Darminhalt durch Abspülen entfernen, so entfernt man einen Theil des Blutes aus der Darmwand mit. An eine mechanische Absonderung des Inhaltes von der Darmwand ist schon wegen der zarten, zerreisslichen Beschaffenheit der letzteren nicht zu denken. Es wurde daher der Verdauungscanal mitsammt dem Inhalt herausgeschnitten, gewogen und vom Körpergewichte abgezogen. Man erhält so für den Eisengehalt der Thiere zwar nicht ganz richtige absolute, dafür aber unter einander sehr gut vergleichbare Werthe.

Das Verfahren war also folgendes: Das Thier wird mit Aether getödtet und sofort gewogen. Darauf wird zur Entfernung aller an der Oberfläche haftenden Verunreinigungen das ganze Thier mit Seife und Wasser reingewaschen und zuletzt mit destillirtem Wasser abgespült. Darauf wird der Verdauungscanal vom Oesophagus bis zum Anus herausgeschnitten, gewogen und vom Gewicht des ganzen Thieres abgezogen. Das Mesenterium mit den Blutgefässen wird beim

Herausnehmen des Magens und Darmes sorgfältig abpräparirt und bleibt bei dem einzuäschernden Thiere. Die Methode des Einäscherns und der Eisenbestimmung war die in meinen früheren Mittheilungen bereits ausführlich beschriebene. Alle Eisenbestimmungen wurden doppelt ausgeführt, durch Wägung und darauf folgende Titration.

Ich stelle nun in Folgendem die an Kaninchen und Meerschweinchen gewonnenen Zahlen zusammen:

Kaninchen.		Meerschweinchen.	
Alter:	Milligr. Eisen auf 100 gr. Körpergewicht:	Alter:	Milligr. Eisen auf 100 gr. Körpergewicht:
1 Stunde	18,2	6 Stunden	6,0
1 Tag	13,9	1½ Tag	5,4
4 Tage	9,9	3 Tage	5,7
5 »	7,8	5 »	5,7
6 »	8,5	9 »	4,4
7 »	6,0	15 »	4,4
11 »	4,3	22 »	4,4
13 »	4,5	25 »	4,5
17 »	4,3	53 »	5,2.
22 »	4,3		
24 »	3,2		
27 »	3,4		
35 »	4,5		
41 »	4,2		
46 »	4,1		
74 »	4,6		

Die Kaninchen nähren sich — wie ich durch wiederholte, fortgesetzte Untersuchung des Mageninhaltes festgestellt habe — während der ersten 2 Wochen ausschliesslich von der Muttermilch. Um die Mitte der dritten Woche beginnen sie neben der Milch Vegetabilien aufzunehmen und in der vierten Woche findet man im Magen bereits vorherrschend Vegetabilien. Die vierte Woche ist nun auch, wie die obigen Zahlen zeigen, die Zeit, wo der Eisenvorrath verbraucht ist und der relative Eisengehalt des Körpers auf dem Minimum angelangt. Mit der nun beginnenden Aufnahme der eisenreichen Vegetabilien beginnt auch der Eisengehalt des Körpers wieder zu steigen.

Ganz anders die Meerschweinchen. Diese fressen schon am ersten Tage Vegetabilien und zwar mit Vorliebe die sehr eisenreichen Blätter, und an den folgenden Tagen spielt die Milch nur noch eine untergeordnete Rolle neben der Pflanzennahrung. Dem entsprechend haben die Meerschweinchen — wie die obigen Zahlen zeigen — bei der Geburt nur einen sehr geringen Eisenvorrath in ihren Organen aufgespeichert. — Die Natur selbst hat hier an diesen zwei nah verwandten Thierarten ein Experimentum crucis gemacht, welches meine Auffassung von der Bedeutung des Eisenvorrathes beim Neugeborenen bestätigt.

Die absoluten Zahlen für den Eisengehalt der Thiere lassen sich leider nicht gut vergleichen, weil die analysirten Thiere nicht alle demselben Wurfe angehörten und weil die Thiere aus verschiedenen Würfen auch bei gleichem Alter ein sehr verschiedenes Körpergewicht und einen sehr verschiedenen Eisengehalt haben. Ich stelle daher in Folgendem die Zahlen nur für zwei Würfe zusammen, von denen ich an sämmtlichen Jungen die Eisenbestimmung ausgeführt habe:

Kaninchen.

Wurf I.				Wurf II.			
Alter.	Körpergewicht in gr.	Absolute Eisenmenge im ganzen Thiere in Milligr.	Milligr. Eisen auf 100 gr. Körpergewicht.	Alter.	Körpergewicht in gr.	Absolute Eisenmenge im ganzen Thiere in Milligr.	Milligr. Eisen auf 100 gr. Körpergewicht.
—	—	—	—	1 Stunde	52,1	9,5	18,2
1 Tag	47,2	6,6	13,9	—	—	—	—
—	—	—	—	5 Tage	100,5	7,9	7,8
6 Tage	56,8	4,9	8,5	—	—	—	—
11 Tage	111,8	4,8	4,3	—	—	—	—
—	—	—	—	13 Tage	166,9	7,5	4,5
—	—	—	—	17 Tage	244,9	10,5	4,3
22 Tage	158,5	6,9	4,3	—	—	—	—
—	—	—	—	24 Tage	295,6	9,4	3,2
—	—	—	—	35 Tage	444,9	19,9	4,5
41 Tage	396,6	16,7	4,2	—	—	—	—
61 Tage	529,8	21,6	4,1	—	—	—	—
74 Tage	604,0	28,1	4,6	—	—	—	—

Man ersieht aus den vorliegenden Zahlen, dass die absolute Eisenmenge sich in der Zeit der Milchnahrung — bis zum 24. Tage — nur wenig ändert. Das Körpergewicht wächst während dieser Zeit bei den Thieren des zweiten Wurfes nahezu auf das Sechsfache. Dem entsprechend sinkt der procentische Eisengehalt auf $^1/_6$. Das ist der Moment, wo der bei der Geburt mitgegebene Eisenvorrath erschöpft ist. Nun beginnt die Aufnahme der eisenreichen Pflanzenkost und dem entsprechend wächst jetzt die absolute Eisenmenge genau proportional dem Körpergewicht, so dass die relative Eisenmenge constant bleibt.

Wollte man nach Ablauf der Säuglingsperiode fortfahren die jungen Kaninchen ausschliesslich mit Milch zu ernähren, so müssten sie anämisch werden. Ich beabsichtige, die Richtigkeit dieser Voraussetzung auf experimentellem Wege zu prüfen. Es ergibt sich daraus die praktisch richtige Regel, dass bei Kindern nach vollendeter Säuglingsperiode Milch nicht die vorherrschende Nahrung bilden darf. Man ist sehr geneigt, anämischen, schwächlichen Kindern Milch zu verordnen, ohne zu wissen, dass dadurch der Zustand verschlimmert wird. Zwar wächst das Kind nicht so rasch wie das junge Kaninchen, dieser Unterschied aber ist nur ein gradueller. Auch in der Nahrung blutarmer erwachsener Individuen darf die Milch nicht zu sehr vorherrschen. Will man aus anderen Gründen Milch anrathen, so sorge man dafür, dass die übrige Nahrung um so eisenreicher sei. Dazu diene vorläufig die obige Tabelle, die ich noch zu vervollständigen gedenke. Als eisenreich sehr zu empfehlen ist der Eidotter, dessen Eisenverbindung nach den Untersuchungen von C. A. Socin (l. c.) resorbirbar und assimilirbar ist. In den Vegetabilien scheint das Eisen — soweit meine bisherigen Untersuchungen reichen — in ähnlicher Form enthalten zu sein.

Fraglich ist es dagegen, wie weit das Eisen des Fleisches resorbirbar ist. Dasselbe ist hauptsächlich als Hämoglobin in den Blutgefässen des Muskels enthalten. Vom Eisen des Hämoglobins aber wissen wir nicht, ob es resorbirt wird. Schon bei der Magenverdauung spaltet sich das Eisen als

Hämatin aus dem Hämoglobinmolekül ab. Das Hämatin ist in Wasser ganz unlöslich. Die Frage nach der Resorbirbarkeit des Hämatins ist sehr schwer zu entscheiden. Würde man z. B. finden, dass Hämatin im Verdauungscanale verschwindet, so würde daraus noch nicht folgen, dass es mit seinem Eisen resorbirt sei, denn, wie Hoppe-Seyler[1]) gezeigt hat, wird durch nascirenden Wasserstoff — man denke an die buttersaure Gährung im Darminhalte — das Hämatin in Eisen und Urobilin gespalten. — Dennoch muss diese praktisch wie theoretisch höchst wichtige Frage experimentell entschieden werden. Ein Weg, der vielleicht zum Ziele führen könnte, scheint mir der folgende: Man füttert kleine Thiere mit eisenfreier Nahrung, der man keine andere Eisenverbindung hinzufügt als Hämoglobin, und beobachtet, ob sie dabei bestehen können. Dass auch die Ausführung dieses Versuches auf sehr grosse experimentelle Schwierigkeiten stösst, hat die erwähnte Arbeit von C. A. Socin gezeigt. Nichtsdestoweniger beabsichtige ich diese Untersuchung fortzusetzen.

Analytische Belege.

Nahrungsmittel.

Weizen. 121,62 gr. der bei 120° C. getrockneten Körner gaben 0,0192 $FePO_4$ = 0,00712 Fe. Bei der Titration verbraucht: 5,90 cbcm. Chamäleonlösung (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,00616 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,00664 Fe = 0,00546 % Fe.

Reis. 98,60 gr. der bei 120° C. getrockneten Körner gaben 0,0051 $FePO_4$ = 0,00189 Fe. Beim Titriren verbraucht: 1,8 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,00188 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,00189 Fe = 0,0019 % Fe.

Erdbeeren[2]). 1. 29,0 gr. bei 120° C. getrockneter Beeren eingeäschert. In der Asche durch Titration gefunden: 0,0025 Fe = 0,0086 % Fe.

---

[1]) Hoppe-Seyler, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 7, S. 1065, 1874.

[2]) Zur Bestimmung des Eisens in den **Walderdbeeren** veranlasste mich der auffallend hohe Eisengehalt, welcher für dieselben in Wolff's «Aschenanalysen» auf Grund einer Analyse von Richardson (Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 67, Heft 3, 1848) angegeben ist: 0,14 Fe auf 100

2. 96,00 gr. frischer Walderdbeeren gaben bei 120° C. vollständig getrocknet 14,97 Trockensubstanz = 15,59 % Trockensubstanz. Daraus 0,0035 $FePO_4$ = 0,001298 Fe. Beim Titriren verbraucht: 1,4 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010532 Fe) = 0,001475 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,001386 Fe = 0,00144 % Fe in den frischen Beeren und 0,00925 % Fe in den trockenen Beeren.

Spinat[1]). 36,7 gr. der frischen Blätter gaben bei 120° C. getrocknet 4,8893 gr. Trockensubstanz (= 13,22 %). In der Asche derselben wurden durch Titration gefunden: 0,0016 Fe = 0,00436 % Fe der frischen und 0,0327 % Fe der trockenen Blätter.

Kaninchen.

Wurf I.

1. 4 Junge, 1 Tag alt, wogen zusammen 203,87 gr. Gewicht der Därme nebst Inhalt (vergl. oben S. 176): 15,17 gr.

---

trockener Beeren! Diese Zahl ist, wie meine beiden Bestimmungen lehren, 15mal zu hoch ausgefallen! Die Beeren zu meiner ersten Analyse waren bei Dorpat, die zur zweiten bei Basel gesammelt. Da beide Analysen das gleiche Resultat ergaben, so scheint es, dass der Eisengehalt der Walderdbeeren ein sehr constanter ist.

[1]) Auch zur Bestimmung des Eisengehaltes in den **Spinatblättern** wurde ich durch die hohen Zahlen veranlasst, welche in Wolff's «Aschenanalysen» für dieselben angegeben sind. Nach der einen Analyse würden 100 gr. der trockenen Blätter einen halben Gramm Eisen enthalten! Diese Zahl ist 16mal zu hoch! Für die Richtigheit meiner Analyse bürgt die Uebereinstimmung mit der Analyse Boussingault's. Vergl. die Tabelle im Eingang dieser Abhandlung. — Der hohe Eisengehalt der Spinatblätter scheint mit ihrem Chlorophyllreichthum im Zusammenhange zu stehen. Bekanntlich kommt die Bildung des Chlorophylls, welches selbst eisenfrei ist, nur unter Mitwirkung des Eisens zu Stande, und es scheint, dass hierbei eine der Chlorophyllmenge proportionale Menge einer Eisenverbindung in den Geweben abgelagert wird. Boussingault (l. c.) fand in dem äusseren grünen Blatte eines Kohlkopfes 4mal so viel Eisen als in dem inneren chlorophyllfreien («etiolirten») Blatte. Die Eisenverbindung in den grünen Pflanzentheilen ist keine anorganische Verbindung und keine Verbindung von Eisenoxyd oder Oxydul mit organischen Säuren, denn das Eisen lässt sich aus den grünen Blättern mit salzsäurehaltigem Alkohol nicht extrahiren. Vergl. meine Abhandl., diese Zeitschr., Bd. 9, S. 49, 1884.

Differenz: 188,70 gr. Daraus 0,0776 $FePO_4$ = 0,02878 Fe. Beim Titriren verbraucht: 22,20 cbcm. Chamäleonlösung (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,02370 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,02624 Fe = 0,013905 % Fe.

2. 1 Junges, 6 Tage alt, 72,83 gr. schwer. Verdauungscanal: 16,01 gr. Differenz: 56,82 gr. Die Gewichtsbestimmung des Eisens wird verworfen, weil es sich herausstellt, dass der Niederschlag von $FePO_4$ etwas Kalk enthält. Bei der Titration verbraucht: 4,55 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,004857 Fe = 0,008547 % Fe.

3. 1 Junges, 11 Tage alt, Männchen, noch blind, im Magen nur Milch. Körpergewicht: 128,20 gr. Verdauungscanal: 16,42. Differenz: 111,78. Daraus 0,0133 $FePO_4$ = 0,004932 Fe. Beim Titriren verbraucht: 4,40 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,004696 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,004814 Fe = 0,004307 % Fe.

4. 1 Junges, 22 Tage alt, Männchen, die Augen offen, im Magen fast nur Vegetabilien. Körpergewicht: 197,48 gr. Gewicht des Verdauungscanales: 28,98. Differenz: 158,50. Daraus 0,0182 $FePO_4$ = 0,006750 Fe. Beim Titriren verbraucht: 6,60 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,007045 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,006898 Fe = 0,004352 % Fe.

5. 1 Junges, 41 Tage alt, Weibchen, im Magen nur Vegetabilien, 556,45 gr. schwer. Verdauungscanal: 159,85. Differenz: 396,60. Daraus 0,0469 $FePO_4$ = 0,01739 Fe. Beim Titriren verbraucht: 14,7 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,001074 Fe) = 0,01591 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,01665 Fe = 0,004198 % Fe.

6. 1 Junges, 61 Tage alt, Weibchen, 714,02 gr. schwer. Verdauungscanal: 184,24. Differenz: 529,78. Daraus 0,0596 $FePO_4$ = 0,022103 Fe. Beim Titriren verbraucht: 20,05 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010532 Fe) = 0,021116 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,02161 Fe = 0,004079 % Fe.

7. 1 Junges, 74 Tage alt, Weibchen, 919,75 gr. schwer. Verdauungscanal: 315,72 gr. Differenz: 604,03. Daraus

0,0778 $FePO_4$ = 0,028853 Fe. Zum Titriren verbraucht: 25,9 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010532 Fe) = 0,027277 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,02806 Fe = 0,004645 % Fe.

Wurf II.

1. 1 Junges, 1 Stunde nach der Geburt getödtet. Im Magen bereits Milch. 59,27 gr. schwer. Gewicht des Verdauungscanales: 7,22. Differenz: 52,05. Daraus 0,0260 $FePO_4$ = 0,009642 Fe. Beim Titriren verbraucht: 8,8 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010532 Fe) = 0,009268 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,009455 Fe = 0,018165 % Fe.

2. Männchen, 5 Tage alt, der Magen mit Milch gefüllt, 111,10 gr. schwer. Verdauungscanal: 10,55. Differenz: 100,55. Daraus 0,0204 $FePO_4$ = 0,0075655 Fe. Beim Titriren verbraucht: 7,8 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,008148 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,007857 Fe = 0,007814 % Fe.

3. Weibchen, 13 Tage alt, Augen offen, im Magen nur Milch, 189,91 gr. schwer. Gewicht des Verdauungscanales: 23,00. Differenz: 166,91. Daraus 0,0200 $FePO_4$ = 0,0074172 Fe. Beim Titriren verbraucht: 7,3 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,0076256 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,0075214 Fe = 0,004506 % Fe.

4. Männchen, 17 Tage alt, im Magen neben Vegetabilien noch vorherrschend Milch, 280,95 gr. schwer. Verdauungscanal: 36,05. Differenz: 244,90. Daraus 0,0277 $FePO_4$ = 0,010273 Fe. Beim Titriren verbraucht: 10,2 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,010655 Fe. Mittel: 0,010464 Fe = 0,004273 % Fe.

5. Weibchen, 24 Tage alt, im Magen nur Vegetabilien, 364,85 gr. schwer. Verdauungscanal: 69,23. Differenz: 295,62. Daraus 0,0258 $FePO_4$ = 0,009568 Fe. Beim Titriren verbraucht: 8,80 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,0091924 Fe. Mittel: 0,0093802 Fe = 0,0031731 % Fe.

6. Männchen, 35 Tage alt, 579,55 gr. schwer. Verdauungscanal: 134,66. Differenz: 444,89. Daraus 0,0571 $FePO_4$

= 0,021176 Fe. Beim Titriren verbraucht: 17,75 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,018542 Fe. Mittel: 0,019859 Fe = 0,004464 % Fe.

Wurf III.
6 Junge.

Am 5. Tage wird 1 Junges getödtet, 40,27 gr. schwer. Verdauungscanal: 4,88. Differenz: 35,39. Daraus 0,0100 $FePO_4$ = 0,003709 Fe. Beim Titriren verbraucht: 3,10 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,001067 Fe) = 0,003309 Fe. Mittel: 0,003509 Fe = 0,009915 % Fe.

Wurf IV.
3 Junge.

Am 8. Tage wird 1 Junges getödtet, Weibchen, noch blind, im Magen nur Milch, 155,58 gr. schwer. Verdauungscanal: 22,39. Differenz: 133,19. Daraus 0,0225 $FePO_4$ = 0,008344 Fe. Beim Titriren verbraucht: 7,20 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,007685 Fe. Mittel: 0,008015 Fe = 0,0060177 % Fe.

Wurf V.
6 Junge.

Am 28. Tage 1 Junges getödtet, Männchen, im Magen nur Vegetabilien, 358,3 gr. schwer. Verdauungscanal: 86,8. Differenz: 271,5. Daraus 0,0257 $FePO_4$ = 0,009531 Fe. Beim Titriren verbraucht: 8,45 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,009019 Fe. Mittel: 0,009275 Fe = 0,003416 % Fe.

Meerschweinchen.

Wurf I.
3 Junge.

1. Männchen, 6 Stunden alt, Augen offen, im Magen noch keine Nahrung, 101,83 gr. schwer. Verdauungscanal: 6,37. Differenz: 95,46. Daraus 0,0161 $FePO_4$ = 0,005971 Fe. Beim Titriren verbraucht: 5,20 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,00555 Fe. Mittel: 0,00576 Fe = 0,00603 % Fe.

2. Weibchen, 53 Tage alt, 437,46 gr. schwer. Verdauungscanal: 80,27. Differenz: 357,19. Daraus 0,0523 $FePO_4$ = 0,019398 Fe. Beim Titriren verbraucht: 17,10 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010532 Fe) = 0,01801 Fe. Mittel: 0,018702 Fe = 0,005236 % Fe.

Wurf II.
4 Junge.

1. Weibchen, 9 Tage alt, im Magen nur Vegetabilien, 123,50 gr. schwer. Verdauungscanal: 19,20. Differenz: 104,30. Daraus 0,0114 $FePO_4$ = 0,0042278 Fe. Beim Titriren verbraucht: 4,7 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,0049096 Fe. Mittel: 0,0045687 Fe = 0,0043804 % Fe.

2. Männchen, 15 Tage alt, 155,52 gr. schwer. Verdauungscanal: 28,00. Differenz: 127,52. Daraus 0,0140 $FePO_4$ = 0,005192 Fe. Beim Titriren verbraucht: 5,80 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,0060587 Fe. Mittel: 0,005625 Fe = 0,004411 % Fe.

3. Weibchen, 25 Tage alt, 240,72 gr. schwer. Verdauungscanal: 53,00. Differenz: 187,72. Daraus 0,0226 $FePO_4$ = 0,0083814 Fe. Beim Titriren verbraucht: 8,10 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010446 Fe) = 0,0084613 Fe. Mittel: 0,008421 Fe = 0,004486 % Fe.

Wurf III.
3 Junge.

1. Weibchen, 1½ Tag alt, im Magen Vegetabilien neben wenig Milch, 83,75 gr. schwer. Verdauungscanal: 9,07. Differenz: 74,68. Daraus 0,0102 $FePO_4$ = 0,0037827 Fe. Beim Titriren verbraucht: 4,00 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010532 Fe) = 0,0042128 Fe. Mittel: 0,0039977 Fe = 0,005353 % Fe.

2. Weibchen, 22 Tage alt, 250,70 gr. schwer. Verdauungscanal: 54,97. Differenz: 195,73. Daraus 0,0220 $FePO_4$ = 0,008159 Fe. Beim Titriren verbraucht: 8,50 cbcm Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010532 Fe) = 0,008952 Fe. Mittel: 0,008556 Fe = 0,004371 % Fe.

Wurf IV.

3 Junge.

Am 4. Tage ein Junges getödtet, 95,32 gr. schwer. Verdauungscanal: 9,88. Differenz: 85,44. Daraus 0,0124 $FePO_4$ = 0,0046 Fe. Beim Titriren verbraucht: 4,80 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,0051 Fe. Mittel: 0,00485 Fe = 0,00568 % Fe.

Wurf V.

3 Junge.

Weibchen, 5 Tage alt, im Magen nur Vegetabilien zu erkennen, 97,90 gr. schwer. Verdauungscanal: 14,69. Differenz: 83,21. Daraus 0,0130 $FePO_4$ = 0,004821 Fe. Beim Titriren verbraucht: 4,50 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,0047394 Fe. Mittel: 0,00478 Fe = 0,005744 % Fe.

Basel, den 25. October 1891.

Ueber die Zusammensetzung des krystallinischen Eieralbumins.

Von

Franz Hofmeister.

(Der Redaction zugegangen am 28. October 1891.)

In meiner Mittheilung über das krystallisirende Eieralbumin[1]) habe ich die Frage offen gelassen, ob die erhaltenen Krystalle ausschliesslich aus Albumin bestehen oder aber eine Verbindung desselben mit Ammonsulfat darstellen, da es mir nicht gelang, nach Entfernung des Salzes mittels Diffusion die Krystalle wieder zu erhalten. Die Hoffnung, durch Abänderungen des Verfahrens das Eieralbumin oder einen anderen Eiweissstoff auch aus salzfreier Lösung zum Krystallisiren zu bringen, hat mich damals von der Vorführung von Zahlenbelegen über die Zusammensetzung der betreffenden Krystalle abgehalten. Leider ist diese Hoffnung auch seitdem nicht in Erfüllung gegangen. Wohl aber ist es auf anderem Wege gelungen, zu zeigen, dass die dargestellten Eiweisskrystalle keine irgend erhebliche Salzmenge enthalten können.

Befreit man nämlich den nach vorsichtigem wiederholtem Umkrystallisiren aus Ammonsulfatlösung erhaltenen, von amorphen Beimengungen (Globuliten) freien Krystallbrei durch Absaugen und Abfiltriren von dem grössten Theile der Mutterlauge und bringt ihn unter Alkohol, so geht im Verlaufe der nächsten Stunden das Eiweiss, ohne seine Krystallform zu ändern, in die coagulirte Modification über. Man

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 165.

lässt, um des völligen Unlöslichwerdens sicher zu sein, einige Tage unter Alkohol stehen und kann dann leicht in geeigneter Weise das beigemengte Salz mit Wasser auswaschen. Nach weiterem Ausziehen mit Alkohol und Aether erhält man so ein Präparat von grobpulveriger Beschaffenheit, welches unter dem Mikroskop immer noch die Krystallformen des ursprünglichen Präparates, Platten, Prismen, Drusen, theils wohlerhalten, theils in Bruchstücken aufweist. Die Krystalle zeigen weder Arrosion, noch andere Veränderungen, welche auf das Austreten eines löslichen, von der coagulirenden Wirkung des Alkohols nicht betroffenen Bestandtheils hinweisen würden. Dieselben können somit irgend erhebliche Quantitäten Ammonsulfat nicht enthalten haben[1]).

Dieses Ergebniss steht im Einklang mit der Anschauung, zu welcher S. Gabriel[2]) auf einem anderen, mehr indirecten Wege gelangt ist. Er bestimmte an dem krystallisirten, aber noch mit Ammonsulfat verunreinigten Albumin die Menge des gesammten und die Menge des als Ammoniak vorhandenen Stickstoffs und fand daraus durch Berechnung, dass sein Präparat neben 80,86 °/₀ Eieralbumin 15,56 °/₀ an schwefelsaurem Ammon enthielt. Da letztere Menge ungezwungen auf noch anhaftende Mutterlauge bezogen werden kann, so hält er den auf die Albuminkrystalle selbst entfallenden Salzgehalt für unbedeutend.

Durch diese Beobachtungen ist zwar die Annahme, dass die in Rede stehenden Krystalle Verbindungen von Eiweiss und Salz darstellen, nicht absolut ausgeschlossen, aber so lange dieselbe ihre einzige Stütze in der Analogie mit den

---

[1]) Harnack, Chem. Berichte, Bd. 23, S. 3748, gibt an, nach meinem Verfahren krystallinische Eiweiss-Salzverbindungen von sehr niedrigem, etwa 5 °/₀ betragenden Eiweissgehalt gewonnen zu haben. Es muss Harnack überlassen bleiben, den Beweis für die Richtigkeit dieser Beobachtung zu führen. Ich habe Aehnliches nicht gesehen. Jedenfalls haben Harnack's Eiweisskrystalle — wenn nicht überhaupt eine Täuschung vorliegt — mit dem von mir beschriebenen krystallisirenden Eieralbumin nichts zu thun.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 456.

Eiweisskrystallen pflanzlicher Reservestoffbehälter findet, kann sie kaum Anspruch auf ernste Beachtung erheben.

Das in beschriebener Weise erhaltene, aus Pseudomorphosen der Eiweisskrystalle bestehende Präparat muss seiner Darstellung zufolge noch die ursprüngliche Zusammensetzung besitzen, da die Coagulation von Eiweiss mit Alkohol ebenso wenig eine Abspaltung, als eine Addition fremder Molecülgruppen bewirkt. Darum hat die Kenntniss der elementaren Zusammensetzung auch dieses veränderten Präparates ihren Werth.

Die zu analysirende Substanz stellte ein röthlichweisses[1]), mittelfeines, nicht hygroskopisches Pulver dar, welches bei 110° getrocknet rasch constantes Gewicht annahm. Sie war aschefrei. 0,3804 gr. hinterliessen beim Verbrennen im Platintiegel weder sichtbaren, noch wägbaren Rückstand.

Die Analyse ergab nachfolgende Werthe:

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
C	53,36	53,21	—	—	—	—	—	—
H	7,31	7,21	—	—	—	—	—	—
N	—	—	14,92	15,06	(14,99)	(15,02)	—	—
S	—	—	—	—	—	—	1,01	(1,18).

Die Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs geschah im geschlossenen Rohre, zuletzt im Sauerstoffstrom, mit Bleichromat unter Vorlage einer Kupferspirale, die Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl, jene des Schwefels nach Liebig in der von Hammarsten[2]) angegebenen Modification.

Die in Klammern angeführten Zahlen unter V, VI und VIII beziehen sich auf ein Präparat, das von einer anderen

---

[1]) Das verwendete Eiweisspräparat war aus Ammonsulfat zuerst in röthlich gefärbten Krystallen erhalten worden, hatte aber beim Umkrystallisiren die Färbung ganz verloren. Beim Auswaschen der mit Alkohol coagulirten Krystalle mit Aether stellte sich unerwarteter Weise der röthliche Farbenton wieder ein.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 289.

Darstellung herstammte und in anderer Weise für die Analyse vorbereitet worden war. In diesem Fall war nämlich der krystallinische Eiweisskörper mitsammt der anhaftenden Ammonsulfatlösung in Wasser gelöst und zur Coagulation erhitzt worden. Der erhaltene Niederschlag lieferte nach Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Aether ein blendend weisses, feines, leicht bei 110° zu trocknendes Pulver. Da die Coagulation von Eiweiss durch Kochen erfahrungsgemäss mit einem kleinen Verlust an Substanz verbunden ist, welcher auf Abspaltung einer Atomgruppe bezogen werden kann, so habe ich mich mit der Untersuchung dieses Präparates nicht begnügt. Die erhaltenen Zahlen lehren jedoch, dass es in seiner Zusammensetzung mit dem durch Alkoholcoagulation erhaltenen identisch war.

Von den zahlreichen bisher mitgetheilten Zahlen für Eieralbumin können hier nur die zuletzt von Hammarsten durch Analyse eines Präparates von Starke[1]) erhaltenen zum Vergleich herangezogen werden, da nur in diesem Falle ein von Eiglobulin sicher befreites Albumin zur Untersuchung gelangt war.

Nachstehend stelle ich die von Hammarsten gefundenen Werthe neben das Mittel der oben angeführten.

	Hammarsten:	Mittel meiner Bestimmungen (bei 110°):
C	52,25 %	53,28 %
H	6,90 %	7,26 %
N	15,25 %	15,00 %
S	1,93 %	1.09 %.

Ein Vergleich dieser Zahlen zeigt, dass Hammarsten eine an Kohlenstoff ärmere und an Schwefel reichere Substanz vorgelegen hatte. Die Reinigung des Eiweisses durch Umkrystallisiren scheint sonach mit der Entfernung eines relativ kohlenstoffärmeren, aber sehr schwefelreichen Körpers einherzugehen. Minder fällt die Differenz im Stickstoffgehalt in's Gewicht. Sie geht nicht über die Fehlergrenzen der

---

[1]) Jahresbericht f. Thierchemie, 1881, S. 17.

Analyse hinaus, wenn man in Betracht zieht, dass Hammarsten den Stickstoff nach der stets zu hohe Zahlen ergebenden Methode von Dumas[1]), ich nach dem in dieser Richtung vorwurfsfreien Verfahren Kjeldahl's bestimmte. Bemerkenswerther Weise berechnet S. Gabriel aus seinen Analysen, indem er den Stickstoff des vorhandenen Ammonsulfats in Abrechnung bringt, auch einen Stickstoffgehalt von nahe 15,0 %. Es fallen daher alle Beobachtungen in der Sicherstellung dieses für einen Eiweisskörper auffällig niedrigen Werthes zusammen.

Prag, Pharmakologisches Institut, October 1891.

---

1) Einer gütigen Mittheilung Herrn Prof. Hammarsten's zufolge.

Ueber das Vorkommen von Diaminen bei Krankheiten.

Von

Dr. Ernst Roos, Assistenzarzt.

(Aus der medicinischen Klinik in Kiel.)

(Der Redaction zugegangen am 2. November 1891.)

Vor wenigen Jahren machten Baumann und v. Udránszky die interessante Entdeckung[1]), dass der Harn und die Fäces eines Kranken, welcher an Cystinurie litt, Diamine enthielten, und zwar Pentamethylendiamin und Tetramethylendiamin, zwei Körper, welche mit den von Brieger[2]) beschriebenen Ptomainen Cadaverin und Putrescin nach den Untersuchungen von Ladenburg[3]) und Baumann[4]) identisch sind. Es gelang den beiden erstgenannten Forschern, diese Körper in grösseren Mengen als Benzoylverbindungen und in reinem Zustande aus den Excreten ihres Kranken zu gewinnen. Bald darauf berichteten Brieger und Stadthagen[5]), in zwei Fällen von Cystinurie gleichfalls Pentamethylendiamin gefunden zu haben.

Schon früher war von Brieger der Nachweis geliefert worden, dass Diamine durch die Lebensthätigkeit von Bacterien gebildet werden, und zwar wurden sie von dem genannten Autor bei der Fäulniss von Leichentheilen, Fisch und Leim,

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 562.
[2]) Brieger, Ptomaine, Berlin 1885 u. 86.
[3]) Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. XIX, S. 2585.
[4]) L. c., S. 575.
[5]) Berl. Klin. Wochsnschr., 1889, No. 16.

in den Kulturen des Koch'schen Kommabacillus[1]) und von Bocklisch[2]) in den Kulturen des Finkler-Prior'schen Bacillus gefunden, aus den Kulturen schon nach viel kürzerem Bestehen derselben als bei der Fäulniss. Brieger vermuthet, dass Diamine in den Dejectionen von Cholerakranken vorkommen, und wahrscheinlich ist der eigenthümlich spermatische Geruch derselben durch das Vorhandensein von Pentamethylendiamin bedingt[3]). Der sichere Nachweis ist aber bis jetzt noch nicht geführt.

Durch diese Untersuchungen veranlasst, haben Baumann und v. Udránszky sofort nach der Auffindung der Diamine bei dem Cystinkranken die Ausscheidungen bei den verschiedenartigsten, besonders bacteritischen Erkrankungen daraufhin untersucht: bei Diphtherie, Typhus, Scharlach, Pneumonie, Perforationsperitonitis, Blasenkatarrh, bei ausgebreiteten Eiterungen und tuberkulösen Darmgeschwüren, doch ohne jeden Erfolg. Nur aus Typhusstühlen wurden geringe Mengen von Substanzen erhalten, die sich aber nicht als Diamine erwiesen. Ebensowenig konnten dieselben bei lange andauernder Obstipation und in den Excreten von normalen Menschen gefunden werden. Gleichwohl sprachen die beiden Autoren am Schlusse ihrer Untersuchungen über das Vorkommen der Diamine die Ansicht aus, «dass es sehr wohl möglich sei, dass dieselben noch bei der einen oder anderen Krankheit aufgefunden werden, glauben aber aus ihren bisherigen Erfahrungen schliessen zu dürfen, dass dieses Vorkommen jedenfalls immer ein sehr seltenes bleiben wird»[4]).

Der sichere Nachweis dieser Körper ist also nur bei der Cystinurie geführt, so dass es besonders nach der Veröffentlichung von Stadthagen und Brieger das Nächstliegende war, einen Zusammenhang der beiden Erscheinungen anzunehmen. Ein solcher ist allerdings bei so verschiedenen

---

[1]) Berl. Klin. Wochenschr., 1887, S. 818, und Archiv. f. patholog. Anat., Bd. 115, S. 486.

[2]) Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. XX, S. 1441.

[3]) Berl. Klin. Wochenschr., 1887, S. 819.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 587.

und auf so verschiedene Weise entstehenden Körpern, wenigstens bis jetzt nicht einzusehen, und Baumann und v. Udránszky neigen auch zu der Ansicht hin, dass es sich in ihrem Falle um ein zufälliges Zusammentreffen gehandelt hat. Jedenfalls gaben alle Versuche, durch welche diese Forscher einen Zusammenhang der Diamin- und Cystinausscheidung oder eine Abhängigkeit der beiden Erscheinungen von einander zu finden suchten, völlig negatives Resultat[1]).

Seit einiger Zeit habe ich bei verschiedenen Krankheiten mit der Baumann'schen Benzoylchloridreaction nach diesen Bacterienproducten gesucht, anfänglich besonders in den Fäces, da nach Baumann und v. Udránszky der Darm die Bildungsstätte der Diamine ist und nur mehr oder weniger geringe Mengen, welche resorbirt werden, im Harn erscheinen.

Die Untersuchungen sind noch wenig umfangreich, und deshalb möge diese Mittheilung mehr als vorläufige betrachtet werden.

Bis jetzt bin ich in der Lage, über zwei Fälle zu berichten, bei denen Diamine nachgewiesen werden konnten. Es wurde leider unterlassen, die Cystinurie bei denselben sicher auszuschliessen, doch bin ich sehr geneigt anzunehmen, dass wenigstens bei beiden wohl nicht gleichzeitig auch Cystinurie bestanden hat.

Der erste Kranke, J. N., ein 23jähriger, kräftiger, gesunder junger Mann reiste am Antang d. J. nach Batavia und erkrankte sofort nach der Ankunft an schwerem Fieber, dem sich bald heftige, blutige Diarrhöen zugesellten. Nach kurzem Aufenthalt sah er sich genöthigt, nach Deutschland zurückzukehren und wurde zuerst in Hamburg behandelt, wo sein Leiden für Malaria und Dysenterie erklärt wurde. Gebessert reiste er nach Kiel, erkrankte aber wieder mit schwerem Fieber und wurde am 1. VII. in die Klinik aufgenommen. Das Fieber hatte ausgesprochenen Tertiantypus (die beiden ersten Anfälle wurden medicamentös nicht beein-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XV, S. 77.

flusst[1]). Die höchste Temperatur des ersten war 41°, die des zweiten 41,4°. Im Blute fanden sich zahlreiche Malariaplasmodien. Die Milz war sehr gross, leicht palpabel. Der Stuhl dünnbreiig mit leichter Schleim- und Blutbeimischung. Der eiweissfreie Harn enthielt nur sehr geringe Mengen Indican.

Am 3. VII. untersuchte ich den Stuhl, welcher während und direct nach dem zweiten Fieberanfall entleert wurde, von dem Gedanken ausgehend, dass bei einer so heftigen parasitären Erkrankung, deren einzelne Anfälle so schnell ablaufen, die Producte der Parasiten wohl schnell während und nach dem Anfall ausgeschieden werden. Die geringen Mengen des entleerten Urins konnten nicht getrennt aufgefangen werden. Die Consistenz des Stuhles war breiig bis wässerig, die Farbe grünlich braun, der Geruch stark fäculent, die Menge etwa 500 cbcm. Derselbe enthielt nur sehr geringe Mengen Schleim und Blut beigemengt.

Nach Extraction mit angesäuertem Alkohol und Herstellung einer wässerigen Lösung aus dem Rückstand des eingedampften alkoholischen Extracts wurde dieselbe mit 15 cbcm. Benzoylchlorid und 150 cbcm. 10% Natronlauge geschüttelt. Der ziemlich starke Niederschlag, welcher entstand, wurde abfiltrirt und so weit als möglich in Alkohol gelöst. Darauf wurde die alkoholische Lösung filtrirt, eingedampft und in die etwa 30fache Menge kalten Wassers gegossen. Aus der sofort milchig getrübten Flüssigkeit schieden sich nach einigem Stehen ziemlich reichlich feine, runde Körnchen aus, welche abfiltrirt eine sandartige Masse darstellten. Die Substanz wurde in Alkohol gelöst und filtrirt. Erst nach Eindampfen des Filtrats auf ein sehr kleines Volum krystallisirte ein aus zarten kleinen Plättchen bestehender Körper in der Menge von etwa 0,3 gr. aus. Derselbe löste sich nicht

---

[1]) Der Kranke erhielt nur tägl. 4 × 15 cbcm. eines Decoct. cort. Chin. 20,0 : 200,0. Dass in demselben enthaltene Körper bei den vorliegenden Untersuchungen nicht in Betracht gekommen sein können, wurde, wie beim 2. Falle, der 2stündl. 5 Tropfen Tinct. Opii bekommen hatte, durch besondere Controllversuche ausgeschlossen.

in Wasser und Laugen und gab bei der Probe auf Stickstoff einen starken Niederschlag von Berliner Blau.

Die weitere Bestimmung dieses und des beim 2. Fall erhaltenen Körpers wurde im chemischen Laboratorium des Herrn Professor Baumann in Freiburg unter dessen gütiger Leitung ausgeführt, wofür ich auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank ausspreche. Die Krystalle wurden abermals in Alkohol gelöst, filtrirt, die alkoholische Lösung eingedampft und mit viel Wasser gefällt. Aus der opalescirenden Flüssigkeit schieden sich sofort reichlich rein weisse Flocken aus, die aus feinen Plättchen nnd Nadeln bestanden. Der im Vacuum über Schwefelsäure getrocknete Körper begann bei 125° zu sintern und schmolz kurz über 130° zu einer dicklichen Masse.

Die Analyse ergab trotz der geringen Menge Substanz folgende für das Dibenzoylpentamethylendiamin (Dibenzoylcadaverin)

$$\begin{array}{l} CH_2 - CH_2 - CH_2 - NH(C_6H_5CO) \\ | \\ CH_2 - CH_2 - NH(C_6H_5CO) \end{array}$$

gut stimmende Werthe:

1. 0,1280 gr. Substanz gaben 10,2 cbcm. N bei 18° u. 739 B. = 8,94% N.
2. 0,0582 gr. Substanz gaben
   0,1570 gr. CO_2 = 73,57% C,
   0,0394 gr. H_2O = 7,52% H.

		Berechnet für $C_{19}H_{22}N_2O_2$:		Gefunden: 1.	2.
C	=	228	73,55	·	73,57
H	=	22	7,09	—	7,52
N	=	28	9,03	8,94	—
O	=	32	10,32		
		310	99,99.		

Aus dem Filtrat des bei der Benzoylirung erhaltenen Niederschlags wurde durch dreimaliges Ausschütteln mit Aether nach Verdunsten desselben eine in Nadeln krystallisirende Substanz erhalten, nach Entfernung von allen Beimengungen aber nur Spuren eines in Alkohol löslichen, durch Wasser daraus fällbaren Körpers, so dass eine weitere Bestimmung

desselben nicht möglich war. Doch sind bei dieser Darstellung grössere Verluste nicht sicher auszuschliessen, da mit dem Filtrat zu anderen Zwecken vorher einige Manipulationen vorgenommen worden waren.

Aus äusseren Gründen wurde bei demselben Kranken erst am 28. VII. wieder eine Untersuchung ausgeführt und zwar von 1500 cbcm. Harn von den beiden vorhergehenden Tagen nach der gleichen Methode, ohne dass auch nur die Spur eines ähnlichen Körpers gefunden werden konnte. Der Stuhl war inzwischen normal geworden und das Fieber durch Chinin geheilt.

Dass die Bildung des Diamins wohl nicht auf die Rechnung der Malaria zu setzen, sondern mit der complicirenden Darmerkrankung im Zusammenhang stehend zu denken ist, soll folgender Fall von allerdings einheimischer Malaria zeigen, bei dem wiederholt in verschiedenen Stadien der Krankheit nach diesen Körpern gesucht wurde.

Der 27jährige F. K., Arbeiter am Nordostseekanal, erkrankte am 1. VIII. nach kurzem vorhergegangenen Unwohlsein mit einem heftigen Fieberanfall, dem jeden zweiten Tag um dieselbe Zeit ein weiterer folgte. Am 7. VIII. Mittags wurde der Kranke auf die Klinik aufgenommen, nachdem er Vormittags einen abermaligen Anfall durchgemacht hatte. Das Blut enthielt reichlich die charakteristischen Plasmodien, die Milz war gross, palpabel. Es bestand ebenfalls Durchfall. Der Stuhl vom 8. und der folgenden Nacht (etwa 600 cbcm.), welcher dünnbreiig war und keine besonderen Beimengungen enthielt, wurde gesammelt und nach der oben beschriebenen Methode untersucht, ebenso der vom 9. Morgens bis 10. Morgens entleerte, etwa 500 cbcm. (am 9. Morgens sehr heftiger Fieberanfall). Auch der vom 9. Morgens bis 10. Morgens gelassene, stark urobilinhaltige, sauer reagirende Harn (700 cbcm.), ebenso der vom 11., an welchem Morgen ein weiterer Anfall eintrat, zum 12. gelassene (600 cbcm.) wurden derselben Behandlungsweise unterworfen, aber weder aus dem Harn noch aus dem Stuhl konnten auch nur Spuren ähnlicher Körper gewonnen werden.

Nach Chinindarreichung verschwanden die Anfälle und die Plasmodien, und am 26. VIII. konnte der Kranke geheilt entlassen werden.

Der zweite Fall, bei dem ein positives Resultat erhalten wurde, W. B., ein 20jähriger, sonst gesunder junger Mann, suchte am 23. VII. wegen Gonorrhoe die Klinik auf. Am 11. VIII. erkrankte derselbe unter Fieber an heftigen Durchfällen, ohne dass eine Ursache in der vom Patienten genossenen Nahrung gefunden werden konnte. Um dieselbe Zeit traten auf verschiedenen Stationen der Klinik noch bei mehreren Kranken ähnliche Erscheinungen auf, doch auf demselben Zimmer, trotz der gleichen Kost, nur noch bei einem. Die Erkrankung trug den Charakter einer heftigen Cholerine, welche 7 Tage andauerte und den Patienten sehr herunter brachte. In den ersten Tagen hatte derselbe 10—12 und noch mehr Entleerungen.

Am 12. wurden 700 cbcm. fast wässerigen Stuhls nach der oben beschriebenen Methode untersucht. Der Geruch war eigenthümlich säuerlich, die Reaction sauer.

Durch Fällen der alkoholischen Lösung des bei der Benzoylirung entstandenen Niederschlags mit viel Wasser entstand ein weisslicher, feinkörniger Niederschlag. Derselbe wurde aus Alkohol umkrystallisirt, dann abermals in Alkohol gelöst und durch viel Wasser gefällt. In der leicht milchig getrübten Flüssigkeit zeigten sich sofort schneeweisse kleine Nadeln und Plättchen, welche abfiltrirt und getrocknet wurden. Die Gesammtmenge betrug nicht viel über 0,05 gr.

Die Substanz war stickstoffhaltig und bedeutend schwerer in Alkohol löslich als die im 1. Fall erhaltene. Beim Erhitzen sinterte sie etwa bei 170° unter leichter Braunfärbung und schmolz bei 175°. Obgleich zur Analyse keine hinreichende Menge vorhanden war, so liessen doch die Art der Gewinnung und alle die beschriebenen Eigenschaften, besonders auch die Vergleichung des Körpers mit den bei dem Cystinkranken erhaltenen Dibenzoyldiaminen, die Herr Prof. Baumann vorzunehmen die Güte hatte, keinen Zweifel übrig, dass wir es mit reinem Dibenzoyltetramethylendiamin (Dibenzoylputrescin) zu thun hatten.

Auffallend an diesem Ergebniss ist besonders die geringe Quantität, welche aus der immerhin beträchtlichen Menge Stuhl erhalten wurde, gegenüber den Resultaten von Baumann und v. Udránszky, welche an einem Tage aus den Fäces ihres Cystinkrankken allein bis zu 2 gr. Benzoyldiamine darstellen konnten.

Das bis jetzt vorliegende Material ist jedenfalls viel zu gering, um daraus bestimmte Schlüsse ziehen zu können, wie weit diese Körper bei den vorhandenen Krankheitserscheinungen betheiligt gewesen sein mögen. Nach den Untersuchungen von Scheuerlen, Fehleisen[1]) und Grawitz[2]) haben das Cadaverin und Putrescin Entzündung und Nekrose erregende Eigenschaften, so dass es nahe liegen würde, die Darmerscheinungen in den beiden Fällen wenigstens mit auf Rechnung dieser Körper zu setzen.

Behring[3]) beobachtete nach subcutaner Injection der Base und des salszsauren Salzes von Pentamethylendiamin bei Kaninchen bei Dosen von 0,4—0,6, bei Meerschweinchen nach Einführung von 0,3—0,5 subnormale Temperaturen, Krämpfe und Tod.

Dem gegenüber steht die Angabe von Brieger[4]), welcher diese Verbindungen als «physiologisch indifferent» bezeichnet.

Von Wichtigkeit sind hier auch die Versuche von Baumann und v. Udránszky[5]), welche zu anderen Zwecken grössere Mengen dieser Körper an Hunde verfütterten. Ein Hund von 6 Kilo ertrug 3,0 salzsaures Tetramethylendiamin, später 4,0 salzsaures Pentamethylendiamin ohne Störung des Wohlbefindens, und wenn derselbe Hund nach Eingabe von 10,0 gr. der letzteren Verbindung in Form des essigsauren Salzes wenige Stunden nach der Aufnahme erbrach und einige diarrhoische Entleerungen hatte, so ist das wohl nicht die specifische Wirkung des Diamins, sondern Wirkung des Salzes

[1]) Arbeiten aus d. chirurg. Klinik d. Universität Berlin, 3. Th.
[2]) Virchow's Archiv, Bd. CX, S. 1.
[3]) Deutsch. med. Wochenschr., 1888, No. 24.
[4]) Ptomaine, II. Theil, S. 47.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XV, S. 80 u. 81.

als solches. Grössere Mengen Ammoniumacetat, welche zur Controlle eingegeben wurden, hatten bei dem Thiere dieselbe Wirkung.

Sehr bemerkenswerth ist auch die Thatsache, dass der Cystinkranke, aus dessen Fäces die genannten Autoren so grosse Mengen dieser Verbindungen isoliren konnten, nur breiigen Stuhl hatte und keine Erscheinungen irgendwie stärkerer Darmreizung bot.

Der zweite oben mitgetheilte Fall von Malaria, bei dem auch heftige Diarrhöen bestanden und die zahlreichen von Baumann und v. Udránszky mit negativem Resultat untersuchten Fälle zeigen, dass sich diese Körper jedenfalls nur unter ganz besonderen Umständen finden. Offenbar ist es, wie diese Forscher schon bemerken, von grosser Wichtigkeit für die Wirkung, ob die Diamine als freie Basen oder in Form von Salzen sich im Darme finden, da besonders die freie Base reizend wirkt. Dem gegenüber muss ich daran erinnern, dass im letzten oben beschriebenen Falle der Stuhl sauer reagirte.

Eine vielleicht berechtigte therapeutische Schlussfolgerung wäre, bei solchen Fällen mit alkalisch reagirendem Stuhl eine locale oder innerliche Säuretherapie in's Auge zu fassen.

Möglicherweise sind weitere, umfangreichere Untersuchungen, die an Kranken angestellt werden sollen, im Stande, einige Aufklärung zu bringen und einen vielleicht bestehenden pathologischen Zusammenhang darzuthun.

Ueber Bildung von Glycose und Milchsäure bei Sauerstoffmangel.

Entgegnung

von

T. Araki.

(Der Redaction zugegangen am 21. November 1891.)

In den Comptes rendus hébdom. des séances de la société de biologie, 1891, No. 28, Sér. IX, T. III, 23, October, ist von Herrn Dastre eine Mittheilung publicirt, betitelt: «De la formation de sucre dans l'organisme sous l'influence du défaut d'oxygéne», in welcher der Herr Verfasser meine Arbeit «Ueber die Bildung von Milchsäure und Glycose im Organismus bei Sauerstoffmangel», diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 333—370, einer sehr flüchtigen, aber sehr absprechenden Kritik unterzieht und die Priorität im Ganzen für sich in Anspruch nehmen will.

Die einzigen Arbeiten des Herrn Dastre, auf welche er seine Prioritätsansprüche stützen will, sind enthalten in seiner Thèse von August 1879, betitelt: De la Glycémie asphyxique, und einer Mittheilung über dieselben in den Comptes rendus der Pariser Akademie 1879, T. 89, No. 669.

In dieser Dissertation werden zunächst Versuche geschildert, in denen tracheotomirte Hunde durch eine mit Hahn versehene Canüle wechselweise eine Zeit lang Luft athmen, die in einer tubulirten Glasglocke abgeschlossen ist, dann einige Zeit freie Luft athmen. Es wird beim Beginn des Versuches 10 gr. Blut dem Thier entzogen und nach bestimmter Zeit der Athmung eingeschlossener Luft abermals 10 gr. Blut entnommen. Diese Blutportionen werden nach dem Verfahren

von Cl. Bernard mit Natriumsulfat gemischt coagulirt und der Zuckergehalt mit je 1 cbcm. Fehling'scher Lösung titrirt. Es wird in diesen Versuchen vor dem Sauerstoffmangel 1,28, 1,08 und 1,31 p. M. Zucker, in der Asphyxie 2,28, 2,10, 2,50 p. M. im Blut berechnet. Es werden ferner zwei Versuche beschrieben, in denen die Hunde eine Zeit lang in einer Atmosphäre Luft von 15 bis 25 cm. Quecksilberdruck verweilen, während fortdauernd etwas frische Luft einströmt. Im ersten Versuche wird für das Blut 0,95, im zweiten 1,5 p. M. Zucker berechnet, am Ende 3,46 im ersten und 3,3 p. M. im zweiten Versuche; aber die Thiere waren bereits todt, als das Blut entnommen wurde.

Im letzten Versuche wird im Anfang 2,1, am Ende 4,0 p. M. Zucker gefunden, das Thier war aber sterbend, die Cornea unempfindlich.

Dies sind die Versuche, auf welche der Herr Verfasser seine Prioritätsansprüche gründet.

Mir scheint es zweifelhaft, ob eine Zuckervermehrung wirklich vorhanden war, da die Untersuchungsmethode ausserordentlich mangelhaft ist. Wenn aber eine Vermehrung des Zuckers da war, so bleibt es fraglich, ob dieselbe durch Sauerstoffmangel oder durch das Aufbinden des Thieres, Tracheotomie etc. bedingt war. Seitdem Meissner nachgewiesen hat, dass Zucker aus der Leber in das Blut übergeht durch Aufregung und Quälen des Thieres, haben viele Beobachtungen die Richtigkeit dieser Angabe bestätigt.

Die drei letzten Versuche sind nicht wohl verwendbar, weil die Thiere bei der zweiten Blutentnahme schon todt waren. In den ersten drei Versuchen betrug der höchste berechnete Zuckergehalt im Blute nur 2,5 p. M., also nur wenig mehr als ein häufig angegebener Zuckergehalt des Blutes in normalen Thieren.

Herr Dastre meint nun, schon solche geringe Erhöhung des Zuckergehaltes habe nothwendig Glycosurie zur Folge. Auf welche Beobachtungen er diese Behauptung stützen will, ist mir nicht bekannt. Nach unseren Beobachtungen kann bei noch höherem Gehalt an Zucker im Blut Glycosurie fehlen.

Dabei sind meine Bestimmungen nicht mit geringer Menge Fehling'scher Lösung, sondern durch Gährung oder durch Circumpolarisation ausgeführt. Wo überhaupt von mir Zucker im Harne angegeben ist, bestand die Prüfung ausser der Kupferprobe stets in Darstellung der Krystalle von Glycosazon, Untersuchung der Gährung oder Polarisation.

Herr Dastre hat in seinen Versuchen 1. den Hauptgegenstand meiner Arbeit, die Ausscheidung von Milchsäure im Harne bei Sauerstoffmangel, gar nicht untersucht, 2. den Harn der Thiere auf Zuckergehalt nicht geprüft, 3. bei seinen Versuchen über den Zuckergehalt des Blutes bei Sauerstoffmangel sehr anfechtbare Methoden zur Hervorrufung des Sauerstoffmangels und 4. bei der Bestimmung des Zuckergehaltes ein recht ungenaues Verfahren benutzt.

Ich habe die Resultate meiner Untersuchungen in 6 Sätze zusammengefasst. Dieselben lauten:

«1. Es ist nach diesen Resultaten als erwiesen anzusehen, dass bei ungenügender Sauerstoffzufuhr zu den lebenden Organen der Thiere die genannten Stoffe aus dem Blute in den Harn übergehen, und weil das Blut im normalen Zustande nur Spuren von Glycose und Milchsäure enthält, ist nicht zu zweifeln, dass dieselben durch den Sauerstoffmangel veranlasst sind, aus den Organen in das Blut und von da in den Harn abzufliessen.

2. Waren die Thiere krank (Hund im Versuch No. 8) oder seit einer Reihe von Tagen im Hungerzustande (Hund im Versuch No. 11 und Huhn im Versuch No. 13), so wurde bei dem Sauerstoffmangel im Harne wohl Milchsäure und Albumin, aber keine Glycose gefunden.

3. Die Versuche, welche an Hunden, Kaninchen und Hühnern mit CO angestellt sind, haben die gleichen Verhältnisse ergeben wie bei dem Respiriren einer sehr sauerstoffarmen Luft, indem auch hier die Thiere bei guter Ernährung Glycose, Milchsäure, Albumin im Harne zeigten, bei an-

dauerndem Hunger in der CO-Vergiftung keine Glycose, wohl aber Milchsäure und Albumin.

4. Bei Vergiftung mit Curare und entsprechender künstlicher Respiration fand sich bei Hunden sehr mangelhafte Secretion von Harn, im Blut dagegen Zucker und Milchsäure. Bei Fröschen wurde Glycose und Milchsäure gefunden.

5. Bei Strychninvergiftung von Fröschen wurde Glycose und Milchsäure nachgewiesen.

6. Im Harne von Epileptikern wurde in drei Fällen, in denen der Harn, alsbald nach dem Anfalle gelassen, zur Untersuchung kam, Eiweiss und Milchsäure, kein Zucker gefunden.»

Kein einziges dieser Resultate ist von Herrn Dastre bereits früher gefunden, dennoch sagt er am Schlusse seiner Angriffe gegen meine Arbeit: «Je conclus qu'après ces recents travaux la question en est au point même où je l'avais ammenée en la traitant beaucoup plus complétement.»

Seine Angriffe gegen meine Untersuchungen weise ich ganz entschieden zurück. Die Beurtheilung seiner Prioritätsansprüche überlasse ich den Physiologen, welche die Beobachtungen vorurtheilsfrei prüfen wollen.

Ueber die Fäulniss der Galle und deren Einfluss auf die Darmfäulniss.

Von

Carl Ernst, cand. med.

(Der Redaction zugegangen am 21. November 1891.)

Von den Functionen, welche der Galle bei der Verdauung im Darmkanal zukommen sollen, ist bis jetzt nur eine als zu Recht bestehend von allen Autoren anerkannt worden. Dies ist der Einfluss auf die Fettresorption, der klar zu Tage trat, nachdem man bei Verschluss des Ductus choledochus reichliche Mengen von Fett in den Fäces auftreten sah.

Viel umstritten ist dagegen die Frage, ob die Galle einen fäulnisswidrigen Einfluss auf den Darminhalt auszuüben im Stande ist.

Schon im Jahre 1852 haben Bidder und Schmidt[1]) darauf hingewiesen, dass die Galle antiseptisch wirksam sei. «Bei den Gallenfistelhunden nahmen die Fäces bald eine schmierige, lehmartige Beschaffenheit an, sie waren grau oder grünlich verfärbt und zeigten überaus üblen, oft wahrhaft aashaften Geruch, der entschieden auf Fäulniss hinwies. Dafür sprach auch die starke Gasentwicklung im Darm, das beständige Kollern und Poltern im Unterleib und der Abgang von stinkenden Flatus.»

Voit[2]) spricht sich gegen eine solche Wirkung aus. Desgleichen Röhmann[3]), welcher an seinen Versuchsthieren bei

---

[1]) Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel. Mitau u. Leipzig 1852.

[2]) Ueber die Bedeutung der Galle für d. Aufnahme d. Nahrungsstoffe i. Darmkanal. Stuttgart 1882.

[3]) Archiv f. d. gesammte Physiologie, Bd. 29, S. 512.

vollkommenem Abschluss der Galle vom Darme die Erfahrung machte, dass die Fäulniss nicht erhöht sei, sobald die geeignete Nahrung bei Fernlassen der Fette gewählt würde. Am besten eignen sich wohl Eiweiss mit reichlichen Kohlehydraten, nachdem Hirschler[1]) gezeigt hat, dass dieselben im Stande sind, die Fäulniss der Eiweissstoffe im Darm fast zu sistiren. Denn gibt man Eiweiss und Fett solchen Hunden zur Nahrung, so verhindert das nicht resorbirte Fett das Eiweiss, resorbirt zu werden, und letzteres, von Fett eingeschlossen, fällt der Fäulniss fast vollständig anheim (Röhmann).

Auf einem anderen Standpunkt steht Maly[2]), welcher sagt, dass die Gallensäuren als antiputride Stoffe der Fäulniss entgegenwirken und dies fast durch den ganzen Darmtractus hin thun.

Nach Limbourg[3]) besteht die antiseptische Wirkung der Gallensäuren darin, dass sie den Zerfall der stickstoffhaltigen Nahrungsstoffe zu einfachen, für die Ernährung wenig vortheilhaften oder direct schädlichen Producten verlangsamen.

Ueber diese Wirkung der Galle wurden auch von mir auf den Rath und mit der Unterstützung von Herrn Professor Hoppe-Seyler einige Versuche angestellt. Dabei wurden andere Fragen, die nicht auf das gestellte Thema Bezug haben, sich mir aber bei den Versuchen entgegenstellten, zum Theil beantwortet.

Erste Versuchsreihe.

2 Liter frischer Rindsgalle wurden am 6. März in einer Flasche von ca. 4 Liter Inhalt der Fäulniss ausgesetzt. Die Flasche wurde mit einem Gummipfropfen geschlossen, durch welchen eine gebogene Glasröhre in Quecksilber führte (I).

Ferner wurden 4 Kilo Pferdefleisch, fein zerhackt, mit 8 Liter kalten Wassers extrahirt und das Ganze durch Lein-

---

[1]) Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. X, S. 302.

[2]) L, Herrmann, Handbuch der Physiologie. V. Chemie der Verdauung, S. 185.

[3]) Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. XIII, S. 197.

wand filtrirt; die filtrirte Lösung (8800 cbcm.) wurde in vier Theile zu je 2200 cbcm. getheilt.

Der 1. Theil wurde mit 500 cbcm. frischer Rindsgalle versetzt (II);

Der 2. Theil wurde mit 250 cbcm. frischer Rindsgalle versetzt (III);

Der 3. Theil wurde mit 100 cbcm. frischer Rindsgalle versetzt (IV);

Der 4. Theil wurde ohne Galle gelassen.

Die Portionen II—V wurden in Kolben von je 3 Liter Inhalt gebracht und in derselben Weise wie I geschlossen und der Fäulniss ausgesetzt.

Vom 6. März bis 29. April schritt dieselbe im Verhältniss zu der langen Zeitdauer wohl wegen der damals herrschenden kühlen Witterung nur langsam fort. Während dieser Zeit stieg das Quecksilber in der Glasröhre der Portionen II—V um 3 cm., war aber Ende April wieder gefallen. Dagegen stand es in Portion I ungefähr 3 cm. hoch. Portionen II—V hatten starke Niederschläge.

Vom 29. April an wurden die einzelnen Portionen nach der in dem Laboriatorium von Herrn Prof. Hoppe-Seyler üblichen Methode untersucht. Da ich mich derselben bei fast allen Untersuchungen bedient habe, schicke ich, um Wiederholungen zu vermeiden, die Beschreibung derselben voraus.

Die gefaulte Substanz wurde aus geräumigen Kolben destillirt, bis $^1/_3$ der Flüssigkeit übergegangen war. Das Destillat wurde mit Natronlauge stark alkalisch gemacht und abermals destillirt. In dem hierbei erhaltenen Destillate wurde Indol und Skatol, im stark alkalischen Rückstand Phenol (Destillation nach Uebersättigung mit Kohlensäure und Prüfung des Destillates) nachgewiesen. Der Rückstand im Kolben wurde dann mit Schwefelsäure stark angesäuert und abermals destillirt. Es gingen jetzt flüchtige Säuren in das Destillat über.

Der bei der ersten Destillation im Kolben verbliebene Rückstand wurde durch Filtration von coagulirten Albuminstoffen und Resten der Spaltpilze befreit, die filtrirte Flüssigkeit auf dem Wasserbade stark eingeengt, dann mit Schwefel-

säure stark angesäuert (unter Vermeidung sehr grossen Säureüberschusses) und mit mehreren nicht zu kleinen Portionen Aether geschüttelt, die Aetherlösungen abgegossen. Die Letzteren enthielten fette, flüchtige Säuren, Hydroparacumarsäure und Paroxyphenylessigsäure, während Pepton, Leucin und Tyrosin in der wässerigen Lösung zurückblieben.

Von der Aetherlösung wurde zunächst der Aether abdestillirt, vorhandene feste fette Säuren und Oelsäure wurden nach Entfernung des Aetherrestes beim Stehen in offener Schale abgeschieden und mit Wasser gewaschen, die wässerige Lösung filtrirt. Eine Probe der Letzteren mit Millon's Reagens erwärmt, gab Purpurfärbung bei Anwesenheit von Hydroparacumarsäure und Paroxyphenylessigsäure. Der von Aether nicht gelöste Rückstand wurde mit Wasser verdünnt, Pepton mit Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure ausgefällt und filtrirt. Die filtrirte Lösung wurde mit Barytwasser bis zur alkalischen Reaction versetzt, durch Kohlensäure der Barytüberschuss gefällt, filtrirt und das Filtrat zur Krystallisation abgedampft. Die dünnsyrupöse Lösung lieferte beim Stehen Krystalle von Tyrosin und Leucin.

Bei sämmtlichen Portionen wurde die Fäulniss an demselben Tage unterbrochen. Die Reaction der Flüssigkeiten war alkalisch. Die Niederschläge der Portionen II, III und IV wurden vor der Destillation abfiltrirt.

Bei der Destillation der I. Portion (Galle allein), welche wie alle anderen wegen des starken Schäumens der Galle mit grosser Vorsicht vorgenommen werden musste, ergab die Probe auf Indol mit Salpetersäure, die salpetrige Säure erhielt, zunächst eine starke Rothfärbung. Doch bald setzte sich ein Niederschlag von salpetersaurem Nitrosoindol ab.

Zur Controlle führte ich die weiteren Reactionen auf Indol aus.

Ein mit Salzsäure befeuchtetes Fichtenholzbrettchen wurde bei Zusatz von ein paar Tropfen des Destillates in ganz kurzer Zeit kirschroth.

Ferner Indol und Pikrinsäure, beide in Benzol gelöst, in ein Uhrschälchen zusammengebracht, lieferten lange, rosa

glänzende Krystalle einer Verbindung von 1 Mol. Indol mit 1 Mol. Pikrinsäure.

So war also kein Zweifel mehr, dass man es hier mit Indol zu thun habe.

Diesbezügliche Angaben konnte ich in der Litteratur nicht finden; wohl war bekannt, dass die Galle beim Stehen sehr leicht faule, jedoch sind in dieser Weise die Fäulnissproducte nicht untersucht worden.

Doch ehe ich über die Entstehungsart des Indols in der Galle berichte, möchte ich die Resultate obiger Versuchsreihe weiter mittheilen.

Phenol, Skatol, sowie Ameisensäure konnte bei Portion I nicht nachgewiesen werden.

Der Rückstand der ersten Destillation der beiden Liter Galle wurde auf dem Wasserbade bis zum Syrup eingedampft, mit dem 3fachen Vol. Alkohol versetzt, 24 Stunden stehen gelassen und dann destillirt bis zur Zähflüssigkeit des Rückstandes. Nach dem Erkalten wurde derselbe mit grossen Portionen Aether geschüttelt und abermals 24 Stunden stehen gelassen. Es krystallisirten reichliche Mengen gallensaurer Salze aus.

Der in Aether lösliche Theil enthielt reichliches Cholestearin, welches sowohl mikroskopisch durch seine charakteristischen Tafeln, als auch durch chemische Reaction (Chloroform und Schwefelsäure) nachgewiesen werden konnte.

Zum Nachweis von Lecithin prüfte ich auf Phosphorsäure. Der Rückstand der abgedampften ätherischen Lösung wurde mit Alkohol versetzt und filtrirt, das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde mit einem Gemenge von Soda und Salpeter im Platintiegel stark geglüht und in zwei Portionen getheilt.

Die erste Portion, mit Salpetersäure angesäuert und mit molybdänsaurem Ammonium versetzt, gab einen reichlichen, gelben, feinkörnigen Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammonium.

Die zweite Portion wurde mit Chlorammoniumlösung und Ammoniak versetzt und der Lösung tropfenweise Magnesium-

sulfat zugefügt. Es entstand ebenfalls reichlicher krystallinischer Niederschlag.

Die Destillation der Port. II—V ergab bei II, III und IV Indolreaction in abstufender Menge: bei V war dasselbe gar nicht mehr nachweisbar. Von anderen Fäulnissproducten in II und III konnte Ameisensäure sicher constatirt werden.

Es ist klar, dass die Fäulniss nur sehr wenig vorgeschritten war. Doch da in Port. I, wo viel Galle (500 gr.) zugefügt war, viel Indol, in Port. V, welche keine Galle enthielt, gar keines vorzufinden war, so hat, wenn das Indol aus dem Eiweiss des Fleischextractes stammt, jedenfalls die Galle nicht fäulnisswidrig gewirkt.

Andererseits ist es nicht unmöglich, dass das gebildete Indol gar nicht dem Eiweiss entstammt, sondern der Galle.

Da die Portionen II, III und IV starke Niederschläge hatten, wurden sie vor der Destillation filtrirt und der Rückstand auf dem Filter auf Pepton untersucht.

Dies geschah durch Extrahiren des Niederschlages mit je 120 cbcm. Alkohol, Auflösen eines kleinen Theils des Rückstandes in etwas Wasser, Filtration. Zu der wässerigen Lösung wurde Natronlauge zugefügt und eine Spur einer verdünnten Kupfersulfatlösung. Violettfärbung deutete den Peptongehalt an. Hier zeigte sich das Merkwürdige, dass Port. IV, in welcher nur wenig Galle war, sehr starke Reaction gab, während in Port. II nur Spuren von Pepton nachweisbar waren. Dasselbe stellte sich bei der Untersuchung der Rückstände der Port. II—V nach der ersten Destillation heraus. Port. V hatte sehr viel Pepton, während dasselbe in langsamer Abstufung abnahm und bei II nur noch in Spuren zu finden war.

Tyrosin, Leucin, Hydroparacumarsäure waren nicht nachweisbar.

Da weitere Fäulnissproducte ausser Indol nicht zur Entwicklung gekommen sind und die Eiweisszersetzung scheinbar nur bis zum Pepton gekommen ist, so glaube ich, dass das Indol ein Product der Galle gewesen. Oder man müsste annehmen, dass in den Portionen II—IV die Fäulniss des

Eiweisses schon weiter vorgeschritten sei bis zum Indol, wogegen aber das Fehlen sämmtlicher andern Fäulnissproducte spricht.

Zweite Versuchsreihe.

Am 20. Mai wurden weitere fünf Portionen in derselben Weise, wie in der ersten Versuchsreihe, zur Fäulniss aufgestellt. Zur Verstärkung derselben wurden etwas gallenfreie Fäces zugesetzt, sowie die Temperatur auf 30° gebracht. Zur Neutralisation eventuell entstehender Säuren fügte ich je 20 gr. Calciumcarbonat hinzu. Ausserdem betrug die Menge der Portionen:

Port. I. 500 cbcm. Galle;
Port. II. 1000 cbcm. Wasserauszug aus Pferdefleisch + 250 cbcm. Galle;
Port. III. 1000 cbcm. Wasserauszug aus Pferdefleisch + 125 cbcm. Galle;
Port. IV. 1000 cbcm. Wasserauszug aus Pferdefleisch + 50 cbcm. Galle;
Port. V. 1000 cbcm. Wasserauszug aus Pferdefleisch ohne Galle.

Am 8. Juni wurde mit der Untersuchung begonnen und zunächst Port. II—V wegen der starken Niederschläge filtrirt. Die Reaction sämmtlicher Flüssigkeiten war alkalisch. Die Untersuchungsmethode war der früheren gleich. Es war diesmal Indol, Skatol, Phenol und Ameisensäure in den Port. II—V in der Weise nachweisbar, dass die Portion am reichsten an diesem Producte war, welcher die grösste Menge Galle zugefügt worden war. Port. V enthielt sie im schwächsten Masse. Port. I (Galle allein) ist, was die Stärke der Reactionen angeht, Port. III zur Seite zu stellen. Nur Ameisensäure konnte ich bei I nicht nachweisen.

Die Rückstände auf dem Filter vor der ersten Destillation, sowie der eingedampfte Rückstand nach der ersten Destillation der Port. II—V wurden auf Peptongehalt geprüft.

Port. V hatte den stärksten Peptongehalt, welcher wieder nach II hin bedeutend abnahm.

Es hat also bei diesen Versuchen die Galle gewiss nicht einen fäulnisshemmenden Einfluss ausgeübt.

Der Rückstand der ersten Destillation wurde auf Desoxycholsäure geprüft, worüber ich später berichten werde.

Tyrosin und Hydroparacumarsäure konnten reichlich in II, nur schwach bei V nachgewiesen werden.

Bei beiden Versuchsreihen zeigte sich eine Erscheinung, die mir unerklärlich geblieben ist, die ich aber nicht unerwähnt lassen möchte. Nach der Untersuchung des Destillates auf Phenol wurde der Rückstand mit Schwefelsäure angesäuert. Dabei trat bei Port. I der ersten Versuchsreihe und den Port. I—V der zweiten Versuchsreihe eine deutliche Rosafärbung der Flüssigkeit auf, die beim Stehen gelbbraun wurde, aber beim Destilliren die frühere Rothfärbung wieder erhielt.

Was ich zunächst entscheiden zu müssen glaubte, war die Entstehung des Indols aus der Galle.

Zuerst hat Nencki[1]) angegeben, dass bei der Fäulniss von Eiweiss mit Pankreas Indol gebildet werde. Koukol-Yasnopolsky[2]) fand dasselbe auch ohne Pankreas aus faulendem Fibrin. Brieger[3]) fand es neben Phenol und Skatol in den Fäces. E. und H. Salkowski[4]) erkannten, dass Indol und Skatol aus einer in dem Pankreas präformirten Muttersubstanz durch Bakterieneinwirkung entstehe; je nachdem die eine oder andere Bacillusart kräftiger wirke, herrsche Indol oder Skatol an Menge vor.

Wälschli[5]) stellte Fäulnissversuche mit dem Mucin der Weinbergschnecke (helix pomatia) an und erhielt Indol bei der Destillation.

Endlich hat Hoppe-Seyler[6]) darauf aufmerksam gemacht, dass, so lange die Galle Schleim enthalte, sie sich sehr

---

[1]) Ueber Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas.

[2]) Archiv für d. gesammte Physiologie, Bd. XII, S. 75 ff.

[3]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. X, S. 1027.

[4]) Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. VIII.

[5]) Journal für prakt. Chemie, 1878.

[6]) Handbuch d. path.- u. phys.-chem. Analyse, S. 467.

schnell zersetze; wenn aber durch Alkohol das Mucin völlig ausgefällt sei, dieselbe keine Neigung zur Fäulniss zeige, auch nicht nach dem Verdunsten des Alkohols.

Daher war es wichtig, nachzusehen, ob vielleicht das faulende Mucin die Ursache der Indolbildung sei. Ich stellte folgenden Versuch an:

Am 27. Mai wurden 600 cbcm. ganz frische Galle mit absolutem Alkohol extrahirt, bis das Mucin vollständig ausgeschieden war. Dann wurden die Gallensäuren und das Mucin der Fäulniss in einer Temperatur von 30° ausgesetzt, nachdem beiden Calciumcarbonat und gallenfreie Fäces zugefügt waren. Nach 9tägiger Fäulniss unterbrach ich dieselbe. In der Portion, die das Mucin allein enthielt, zeigte sich reichlicher Niederschlag von salpetersaurem Nitrosoindol bei Zufügen von salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure zu dem Destillat, desgleichen kräftige Reaction bei den Proben auf Skatol, Phenol und Tyrosin. Die Gallensäuren liessen diese Producte nicht nachweisen.

Hiermit wurde klar, dass das Gallenmucin die Quelle des Indols sei. Ueber die Zusammensetzung desselben ist man noch nicht in's Klare gekommen.

Landwehr[1]) nimmt an, dass das Gallenmucin ein Gemenge von Globulin und Glycocholsäure sei, während Paijkull[2]) es zu der Nucleoalbumingruppe rechnet.

Zu dieser Indolbildung bedarf es aber keineswegs einer intensiven oder langsamen Fäulniss. Denn Galle, die ich 6 Stunden nach dem Tödten des Rindes aus dem hiesigen Schlachthause erhielt, zeigte bei dem Destilliren schon deutliche Indolreaction.

Erst als ich mir Galle verschaffte, die nur eine Stunde gestanden hatte und noch warm zur Destillation kam, erhielt ich kein Indol.

Wegen dieser ungemein leichten Zersetzlichkeit der Galle und des grossen Reichthums des Darmkanals an Fäulniss-

---

[1]) Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. VIII, S. 117.
[2]) Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. XII, S. 210.

bakterien darf man dem Gallenmucin einen wesentlichen Einfluss bei der Bildung der Fäulnissproducte zuschreiben. Ich will nicht leugnen, dass auch das Mucin der Darmschleimhaut und die zersetzten Eiweisskörper viel zur Indolbildung beitragen; denn das beweisen schon die Untersuchungen gallenfreier Fäces, die ich wiederholt angestellt habe, und in denen ich ebenfalls die sämmtlichen Fäulnissproducte vorfand.

Noch habe ich eine Untersuchung nachzutragen, die ich auf den Rath von Herrn Professor Hoppe-Seyler mit dem Rückstand nach der ersten Destillation der Port. I der zweiten Versuchsreihe (Galle allein) angestellt habe.

Mylius[1]) hat bei der faulenden Galle ausser der bekannten Cholsäure noch eine andere Säure entstehen sehen, die von jener sowohl, als auch von der von Latschinoff[2]) angegebenen Choleinsäure in verschiedenen Punkten abweiche. Dieselbe sollte, abgesehen von der Leichtlöslickeit in kaltem Alkohol und der Schwerlöslichkeit in Essigsäure und dem rein bitteren Geschmack noch zwei Eigenschaften besitzen:

1. Das Natriumsalz der Säure wird durch 10% Natronlauge aus der wässerigen Lösung gefällt, während die Lösung des cholsauren Natron unter diesen Umständen klar bleibt.

2. Das Baryumsalz der Säure wird aus ihrer selbst sehr verdünnten Lösung von Ammoniak durch Chlorbaryum in der Kälte gefällt, während zum Fällen des cholsauren Baryums Erhitzen der concentrirten Mischung erforderlich ist.

Er nannte diese Säure Desoxycholsäure.

Zur Herstellung derselben wurde der eingedampte Rückstand mit Wasser versetzt und filtrirt, das Filtrat mit Essigsäure versetzt und abermals filtrirt. Der Rückstand auf dem Filter wurde mit Alkohol gewaschen, die alkoholische Lösung eingedampft und mit Eisessig versetzt. Es bildeten sich sofort sehr reichliche Krystalle von grünlich-weisser Farbe. Dieselben wurden auf dem Saugfilter abgesaugt und mit Eisessig verschiedentlich ausgewaschen. Darauf wurden die Krystalle

---

[1]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XIX, S. 373.
[2]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XVIII, S. 3044.

wieder in Alkohol gelöst und der Process in derselben Weise wiederholt. Jetzt wurden die Krystalle auf einem Filter gesammelt und im Luftbade bei 120° getrocknet, dann mit Natriumcarbonat gekocht und filtrirt. Das Filtrat wurde eingedampft, bis kein Tropfen Wasser mehr vorhanden war. Das weisse Pulver wurde in absolutem Alkohol gelöst und filtrirt. Das Filtrat wurde eingedampft und abermals mit absolutem Alkohol gekocht und filtrirt. Das Filtrat wurde eingedampft und in Wasser gelöst.

Fügte man zu einer Portion ein paar Tropfen 10 % Natronlauge hinzu, so entstand ein flockig weisser Niederschlag. Ein anderer Theil wurde mit Chlorbaryum versetzt und gab ebenfalls reichliche Fällung. Die Mengenbestimmung des Baryums in dem Salze der Säure hatte ich unternommen, sie verunglückte aber schliesslich. Doch werde ich, sobald es meine Zeit erlaubt, diesen Versuch wiederholen.

Weitere Versuche wurden am hungernden Hunde angestellt.

Salkowski[1]) hat constatirt, dass der Indicangehalt des Harns bei hungernden Hunden abnimmt, aber keineswegs ganz verschwindet. Er schloss daraus, dass auch in den Geweben eine normale Bildung von Indol stattfinde. Das widerlegte Baumann[2]), indem er nachwies, dass bei völliger Hintanhaltung der Fäulniss mit Kalomel die Aetherschwefelsäuren und ihre Verbindungen verschwinden, wodurch es klar sei, dass sie nicht im Organismus gebildet würden, sondern vom Darm aus resorbirt würden. Dagegen fand er die aromatischen Oxysäuren stets im Harn vor, auch wenn die Fäulniss im Darm gänzlich unterdrückt war.

Morax[3]), der in Baumann's Laboratorium ebenfalls Versuche darüber anstellte, bestätigt die Angaben Baumann's, will aber die antiseptische Wirkung des Kalomels nicht gelten lassen, sondern schreibt der laxirenden Wirkung

---

[1]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, 1876, S. 408.

[2]) Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. X, S. 129.

[3]) Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. X.

desselben es zu, dass keinerlei Fäulnissproducte im Harn auftreten, indem durch das schnelle Durchgehen der Nahrungsmittel durch den Darm das Entstehen der Fäulniss verhindert worden sei.

Den vollständigen Beweis dafür, dass Indol nicht in den Organen entsteht, hat F. Müller[1]) beibringen können, der bei hungernden Hunden sofort nach dem Tödten derselben sämmtliche Organe auf Indol prüfte, aber keine Spur nachweisen konnte. Er spricht in derselben Arbeit die Vermuthung aus, dass die Se- und Excrete der Darmschleimhaut (Mucin) und der Adnexa (Leber und Pankreas) das Indol bei hungernden Thieren liefern würde.

Zu meinem Versuche benutzte ich einen $2^1/_2$jährigen Jagdhund, der am 3. Juni seine letzte Nahrung erhalten hatte.

Am 14. Juni wurde er, nachdem sein Urin mit der Jaffé'schen Probe mit Erfolg auf Indoxyl, sowie auf Skatoxylschwefelsäure, Phenol und Hydroparacumarsäure geprüft war, getödtet. In tiefer Chloroformnarkose wurde der Bauch in der linea alba geöffnet, darauf der Darm am Pylorus, Coecum und Ende des Rectums unterbunden und herausgeschnitten. Der Inhalt des Dickdarms und Dünndarms wurde sorgfältig in getrennte Kolben gebracht und sofort destillirt. Der Inhalt des Dünndarms war vollständig gallig, der Dickdarm hatte dunkelgefärbten alkalischen Inhalt.

Im Dünndarminhalt war ausser Tyrosin kein Fäulnissproduct nachweisbar, dagegen waren sie im Dickdarminhalt alle zu finden ausser Ameisensäure.

Da Hydroparacumarsäure sehr deutlich nachweisbar war, ist es ungezwungener, sie durch Resorption vom Darmkanal aus sich entstanden zu denken. Da im Dünndarm reichlich Gallensäuren und Cholestearin nachzuweisen waren, und sich der Dünndarminhalt zum grossen Theil aus galligen Bestandtheilen zusammensetzte, so möchte ich auch hier dem Gallenmucin eine wesentliche Rolle bezüglich der Indolbildung zuweisen,

---

[1]) Mittheilungen d. mediz. Klinik in Würzburg, II, S. 347.

zumal bekannt ist, dass auch im Hunger noch ziemlich viel Galle abgesondert wird.

Ferner untersuchte ich den Darminhalt solcher Hunde, welche einige Tage vor der letzten Nahrung gehungert hatten und wenige Stunden nach der letzten Kost getödtet wurden. Es wurden dazu zwei Hunde verwandt. Der eine wurde 4 Stunden nach der letzten Nahrung, der andere 7 Stunden später getödtet. Die Nahrung bestand in 1 Pfund fein zertheilten Pferdefleisches. Der Tod wurde durch Oeffnung der Carotis herbeigeführt, um der durch die Chloroformnarkose drohenden Brechbewegung aus dem Wege zu gehen, welche eine Verschiebung des Darminhaltes hätte zur Folge haben können.

Der Darm wurde an 4 Stellen doppelt unterbunden, so dass ich 4 verschiedene Portionen von Darminhalt erhielt:

1. vom Magen bis Ductus choledochus;
2. vom Jejunum;
3. vom Ileum;
4. vom Dickdarm.

Die Reaction war bei 1 sauer, 2 neutral, 3 und 4 alkalisch.

Die Resultate der Destillation waren folgende:

	I.	II.	III.	IV.
Indol	—	deutl. React.	starke React.	starke React.
Skatol	—	schwache	deutliche	starke
Phenol	—	—	spurweise	—
Ameisensäure .	—	schwache	—	schwache
Hydroparacumarsäure	—	starke	schwache	—
Tyrosin	—	starke	schwache	—
Pepton (vor der Destillation) .	starke React.	—	—	—
Pepton (nach der 1. Destillation)	starke	—	—	—

Es war also die Reaction im Jejunum schon alkalisch. Damit steht im Einklang, dass schon in diesem Inhalte Indol und Skatol nachweisbar war. Es scheint die Bildung dieser

Körper früher anzufangen, als Ewald[1]) annehmen möchte. Derselbe fand in einem Falle von Dünndarmfistel, so lange die Fistel bestand, kein Indoxyl und Phenol im Urin. Dagegen traten diese Substanzen sofort auf, nachdem der Inhalt wieder seinen natürlichen Weg nahm. Deshalb verlegte er die Indolbildung in den unteren Darmabschnitt.

Was die Reaction des Inhaltes angeht, so steht sie allerdings im Gegensatz zu den Resultaten, wie sie von Macfadyen, Nencki und Sieber[2]) gefunden wurden. Der Inhalt aus ihrer Dünndarmfistel, welche an der Ileocoecalklappe gelegen war und welchen sie während 6 Monaten beobachteten, zeigte stets saure Reaction.

Um ein Urtheil zu erlangen, wie Pankreas auf die Fäulniss des Mucins einwirke, brachte ich die Hälfte des aus 21 Litern Galle gesammelten Mucins zusammen mit 170 gr. Pankreas, welchen 20 gr. Calciumcarbonat beigefügt war, und setzte es bei 30° der Fäulniss aus. Die andere Hälfte wurde wieder allein faulen gelassen.

Am 7. Tage der Fäulniss wurde mit der Destillation begonnen. Resultat:

	Mucin allein.	Mucin + Pankreas.
Indol	reichl. Niederschlag von salpeters. Nitrosoindol	reichliche Reaction
Skatol	deutlich	schwach
Phenol	sehr stark	schwach
Hydroparacumarsäure .	deutlich	deutlich
Tyrosin	deutlich	schwach
Ameisensäure	—	deutlich

Die Fäulniss scheint hier in keiner Weise durch den Zusatz von Pankreas befördert worden zu sein, da Mucin allein reichlichere Fäulnissproducte geliefert hat. Es scheint, dass sich das Mucin weniger zur Fäulniss mit dem Pankreas eignet als das Eiweiss.

[1]) Virchow's Archiv, Bd. 75, 1878, N. F., S. 409.

[2]) Archiv f. experiment. Path. u. Pharm., Bd. 28, S. 313.

Schliesslich will ich noch von einem Versuch berichten, den ich mit Hilfe von Herrn Dr. Thierfelder angestellt habe.

Es wurde eine Nährflüssigkeit aus 20 gr. Gelatine, 100 gr. Galle und 100 gr. Wasser hergestellt. Nachdem sich dasselbe gelöst hatte, wurde es gekocht, schwach alkalisch gemacht, filtrirt und in einem Reagensröhrchen 2 Tage lang gekocht. Am 3. Tage wurden je 5 cbcm. in gut sterilisirte Reagensröhrchen gegossen, welche beim Erkalten erstarrten.

Darauf wurde mit gefaulter Galle die Nährflüssigkeit, die vorher wieder durch Erwärmen verflüssigt war, geimpft. Die erste (I.) Portion erhielt eine Oese von dem Original, die 2. Portion 3 Oesen von I und die 3. Portion 3 Oesen von II.

Diese geimpften Nährsubstanzen wurden auf sterilisirte Platten gegossen und in die feuchte Kammer gebracht. Nach 3 Tagen waren auf Platte 1 unzählige Mikroorganismen gewachsen, wenige auf Platte 2, gar keine auf Platte 3. Von Platte 2 wurden dicke Stäbchen zur Entwicklung von Reinkulturen in die obige Nährflüssigkeit gebracht und ebenso mit dünnen Stäbchen geimpft. Eine dritte nicht geimpfte Portion wurde mit den anderen beiden in einer Temperatur von ca. 37° der Fäulniss ausgesetzt. Nach 7 Tagen ergab die Destillation bei der Nährflüssigkeit mit den dicken Stäbchen starke Indolreaction, bei der zweiten Portion nichts, desgleichen auch bei der nicht geimpften Portion, bei der gar keine Fäulniss eingetreten war.

Leider hat es mir an Zeit gefehlt, diese Versuche weiter zu verfolgen, sowie noch Controllversuche zu einigen vorher erwähnten Untersuchungen anzustellen. Doch hoffe ich später darauf zurückkommen zu dürfen.

Zum Schluss sei es mir gestattet, Herrn Professor Hoppe-Seyler für die Anregung zu dieser Arbeit und seine stetige Unterstützung während der Ausführung meinen herzlichsten Dank zu sagen. Desgleichen Herrn Dr. Hans Thierfelder, jetzigem Assistenten am hygienischen Institut zu Berlin, für seine stets bereitwillige Hilfe.

Untersuchungen über die quantitative Bestimmung der Phenolkörper des menschlichen Harns.

Von

Prof. Dr. Rumpf in Marburg.

(Der Redaction zugegangen am 23. November 1891.)

Untersuchungen über die flüchtigen Bestandtheile des Harns, welche ich im Laufe des letzten Jahres zum Theil mit meinem Assistenten Herrn Dr. Martini angestellt habe, liessen berechtigte Zweifel auftauchen, ob die seitherigen klinischen Methoden zum quantitativen Nachweis der Phenole im Harn richtig sind.

v. Jaksch gibt in seiner klinischen Diagnostik folgende Vorschriften:

«Die aus einer bestimmten Menge Harns nach Ansäuern desselben in das Destillat übergegangenen Phenole (Phenol und Parakresol) bestimmt man als Tribromphenol nach dem Landolt'schen Vorgehen[1]) unter den von Baumann und Brieger[2]) angegebenen Cautelen.

Man versetzt 1/4 der Tagesmenge Urin mit 1/8 des Volumens Salzsäure, destillirt so lange, als Proben des Destillates noch mit Bromwasser eine Färbung zeigen, filtrirt dasselbe, fügt

[1]) H. Landolt, Berichte der deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 4, S. 770, 1871.

[2]) Baumann und Brieger, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 3, S. 149, 1879, und Berichte der deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 12, S. 804, 1879.

die Proben hinzu und versetzt mit Bromwasser bis zum Eintritte bleibender Gelbfärbung. Man lässt nun den Niederschlag 2—3 Tage stehen, filtrirt ihn durch ein gewogenes und über Schwefelsäure getrocknetes Filter, wäscht mit bromhaltigem Wasser nach und trocknet über Schwefelsäure im Dunkeln bis zur approximativen Gewichtsconstanz. Aus der Menge des erhaltenen Tribromphenols kann man dann die Menge des vorhandenen Carbols berechnen. Die Gewichtsdifferenz zwischen dem Niederschlage mit dem Filter und dem Filter ergibt die Menge des vorhandenen Tribromphenols.»

Die erwähnten von Baumann und Brieger[1]) angegebenen Cautelen fussen nun zunächst auf den grundlegenden Arbeiten der genannten Autoren, dass Phenol bei der Fäulniss der Eiweisskörper entsteht, und dass dasselbe auch im Darmkanal sich vorfindet, ferner auf dem Nachweis, dass neben dem Phenol auch Parakresol und Orthokresol in gleicher Weise entstehen und durch den Harn als Aetherschwefelsäure ausgeschieden werden. Das an Menge überwiegende Parakresol soll sich indessen gegen Bromwasser ähnlich wie die Paraoxybenzoesäure verhalten, d. h. unter Abspaltung von Kohlensäure Tribromphenol liefern.

In der oben schon citirten Arbeit besprechen Baumann und Brieger nochmals das Verhalten des Parakresols gegen Bromwasser und bestätigen ihre frühere Mittheilung, dass das Parakresol durch eine allmälige und nicht ganz glatt verlaufende Reaction in Tribromphenol übergeführt wird, vor Allem dann, wenn der Niederschlag 2—3 Tage bei einer Temperatur von 18—20° unter Bromwasser stehen bleibt.

Wenigstens zeigte der gereinigte Niederschlag einmal einen Schmelzpunkt von 89—90°, später einen solchen von 91°, während derjenige des Tribromphenols bei 92° liegt. Weiterhin zeigte die gereinigte Substanz 72,15% Bromgehalt, während derselbe, auf $C_6H_3Br_3O$ berechnet, 72,5% ergeben würde.

---

[1]) Zeitschrift für physiol. Chemie, 1879, Bd. III, S. 152.

Allerdings fand sich bei der Behandlung abgewogener Mengen von Parakresol mit Bromwasser nicht die ganze als Tribromphenol berechnete Menge wieder, so dass Baumann und Brieger eine genaue Bestimmung der Phenolkörper des Harns durch Wägung des Bromniederschlags nicht für möglich halten. Immerhin glauben sie, dass die Methode in Ermangelung einer besseren zu vergleichenden Bestimmungen benutzt werden kann, wenn bei der Ausführung derselben die gleichen Verhältnisse in Bezug auf Temperatur und Dauer der Einwirkung des Bromwassers eingehalten werden.

Für die Benutzung der Methode zur Bestimmung der Phenolkörper des Harns kommt allerdings noch in Betracht, dass in diesem neben dem Parakresol von Baumann und Brieger noch Orthokresol nachgewiesen ist. Indessen tritt dieses an Menge gegenüber dem Parakresol so zurück, dass neben dem Phenol nur dieses wesentlich in Frage kommt.

Von diesen Gesichtspunkten aus ist denn auch der Versuch gemacht worden, die Ausscheidung der Phenolkörper in der Norm und unter pathologischen Vehältnissen zu bestimmen.

So fand J. Munk[1]) bei rein animalischer Kost 0,006 gr. Tribromphenol, bei gemischter Kost 0,0165 gr. in der täglichen Harnmenge. Brieger[2]) fand in der Norm im Mittel 0,015 gr., während er unter pathologischen Verhältnissen, so bei stärkerer Darmfäulniss, bei einzelnen Infectionskrankheiten und ferner bei einem Kranken mit jauchigen Eiterungen eine beträchtliche Vermehrung der Phenole constatirte. Weiterhin konnte Salkowski[3]) nach Unterbindung des Darms eine Vermehrung der Phenolausscheidung hervorrufen, nachdem er schon zuvor in einigen Ileusfällen ansehnliche, in der Norm nicht nachweisbare Mengen von Phenol gefunden hatte.

Alle diese Untersuchungen fussen also auf der Anschauung, dass die Phenolkörper des Harns nach ihrer Ab-

---

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. XII, S. 142.
[2]) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. II, S. 241.
[3]) Virchow's Archiv, Bd. 73, S. 409.

spaltung durch kochende Säure[1]) in dem Destillat in Tribromphenol übergeführt und als solches bestimmt werden.

Als wir nun nach dem oben angegebenen Verfahren Tagesmengen der überdestillirten Phenole zu untersuchen und zu bestimmen begannen, zeigte der mit Bromwasser gefällte und weiterhin krystallinisch gewordene Niederschlag bezüglich der Krystallform und dem Schmelzpunkt so wesentliche Abweichungen vom Tribromphenol (der Schmelzpunkt unserer Substanz lag bei 108—110° C., während derjenige des Tribromphenols nach Post 92°, nach Körner und Sintenis 95° beträgt), dass selbst die Annahme geringer Verunreinigung der Substanz nicht als genügende Erklärung betrachtet werden konnte. Wir gingen deshalb dazu über, etwas grössere Mengen der Phenolkörper durch Destillation zu gewinnen.

Zu diesem Zweck wurde mehrfach die gesammelte Harnmenge von 20 Tagen nach Eindampfen auf ein geringeres Volumen mit der entsprechenden Menge H_2SO_4 destillirt.

Die bei diesem Verfahren ebenfalls in das Destillat übergehenden flüchtigen Säuren wurden auf verschiedene Weise von den Phenolen getrennt.

Zunächst wurden dieselben an Kalk gebunden und das neutralisirte Destillat mit Aether ausgeschüttelt. Es gelang auf diese Weise, aus dem Aether etwa $^1/_4$ gr. einer bräunlich gefärbten öligen Substanz zu gewinnen, welche nur schwer in Wasser löslich war, deren Lösungen aber mit Bromwasser denselben typischen Niederschlag lieferten, wie das einfache Destillat.

Die rothe ölige Substanz war in Natronlauge nicht völlig löslich, das Gelöste wurde durch HCl alsbald wieder in öligen Tropfen ausgeschieden, löste sich dagegen leicht in Essigsäure, Alkohol und Aether. Sie gab bei Zusatz von Ferrichlorid kaum eine Spur von Rothfärbung.

Mit Bromwasser, das in grösserer Menge erfordert wurde, gab die Lösung der öligen Substanz eine milchige Trübung. Diese Trübung verwandelte sich unter der Einwirkung über-

---

[1]) Vergl. Hoppe-Seyler und Buliginsky, Tübinger med.-chem. Untersuchungen, S. 234.

schüssigen Bromwassers im Laufe von 48 Stunden in farblose Nädelchen, während am Boden des Reagensglases einige compactere gefärbte Partikel sich abschieden.

Ein weiteres Verfahren zur möglichsten Reingewinnung der Phenole bestand darin, dass nach Bindung der flüchtigen Säuren durch Kalk oder Baryt das Destillat einer zweiten Destillation unterworfen wurde. Dieses säurefreie Destillat wurde nun theils auf dem Wasserbad auf ein kleines Volumen eingedampft, wodurch wiederum die oben erwähnte ölige Substanz gewonnen wurde[1]), theils wurden die Phenolkörper direct durch Bromwasser gefällt.

Der Bromniederschlag, welcher bei den verschiedenen Arten der Darstellung entstand, zeigte stets dieselben Eigenschaften. Er wurde nach 48stündigem Stehen im warmen Zimmer abfiltrirt und über H_2SO_4 getrocknet.

Diese seither wesentlich als Tribromphenol betrachtete Substanz liess sich leicht aus Alkohol umkrystallisiren, zeigte aber bei Wiederholung der Schmelzpunktbestimmung constant 108—110° und einen schon oben erwähnten Unterschied der Krystallform gegenüber dem Tribromphenol.

Es musste deshalb der Gedanke nahe liegen, dass es sich um keine einheitliche Substanz, sondern um ein Gemisch handele. Mit freundlicher Unterstützung meines verehrten Collegen Herrn Prof. Zincke versuchten wir das Gemisch zu trennen. Nach mannigfachen Versuchen fanden wir in dem kohlensauren Natron ein Mittel, welches uns das Vorhandensein von mindestens drei Substanzen zeigte.

Behandelt man nämlich den Niederschlag mit einer 10% Lösung von kohlensaurem Natron, so geht ein kleiner Theil in Lösung, der grössere Theil bleibt ungelöst.

Der in kohlensaurem Natron lösliche Theil liess sich durch Salzsäure allerdings nicht immer direct ausfällen und aus Alkohol umkrystallisiren. Er hatte eine gewisse Aehnlichkeit mit Tribromphenol, unterschied sich von diesem jedoch durch einen Schmelzpunkt von 80°; die Brombestimmung

---

[1]) Dieser Versuch wurde natürlich nur zur Orientirung, nicht zur Darstellung des Phenols selbst gemacht.

durch Glühen mit kohlensaurem Natron und nachfolgende Silberbehandlung misslang.

Der in kohlensaurem Natron unlösliche Theil liess sich aus Benzin in kleinen glänzenden gelben Nädelchen umkrystallisiren. Der Schmelzpunkt dieser Substanz lag bei 118°.

Damit war eine gewisse Aehnlichkeit mit Tribromphenolbrom vorhanden. Aber die Untersuchung des Bromgehaltes ergab, nachdem wir später eine grössere Menge krystallinisch in nunmehr silberglänzenden Nadeln erhalten hatten, ein überraschendes Resultat.

0,1676 der über H_2SO_4 getrockneten Substanz ergaben 0,2322 AgBr. Daraus berechnet sich ein Bromgehalt von 58,94 %. Dieser Bromgehalt der Substanz stimmt weder mit dem Gehalt eines der seither bekannten Bromphenolkörper, noch demjenigen des von Baumann und Brieger dargestellten gebromten Kresols überein.

Am meisten Aehnlichkeit hat derselbe mit einem Dibromkresol, dessen Bromgehalt sich zu 60,15 % berechnet, einem Körper, welcher durch Einwirkung von Brom auf Parakresolnatrium von Schall-Dralle[1]) dargestellt ist. Der Schmelzpunkt unserer umkrystallisirten Substanz betrug allerdings jetzt nicht mehr 118°, sondern war beträchtlich niedriger, wenn auch nicht ganz scharf. Bei 48° traten die ersten Erscheinungen des Einschmelzens auf. Doch war dieses erst bei 58° beendet.

Ausser diesen beiden Körpern fand sich bei der Behandlung mit kohlensaurem Natron ein Farbstoff, welcher bei alkalischer Reaction roth, bei saurer Reaction gelb war.

Wir haben somit bei Behandlung der aus dem Harndestillat dargestellten phenolartigen Substanz mit Bromwasser zum Mindesten drei chemisch differente Körper erhalten.

Von diesen können wir den in geringer Menge vorhandenen Farbstoff wohl unberücksichtigt lassen. Von den beiden anderen Körpern dürfte der in kohlensaurem Natron

---

[1]) Berichte, Bd. XVII, S. 2532.

lösliche wohl als ein Gemisch verschiedener Substanzen zu betrachten sein, während der in kohlensaurem Natron unlösliche eine grosse Aehnlichkeit mit Dibromparakresol hat.

Jedenfalls ergibt sich aus diesen Befunden, dass die phenolartigen Körper des Harns durch Behandeln mit Bromwasser keineswegs in eine einheitliche Verbindung übergehen. Dadurch erwachsen für die genaue quantitative Bestimmung auf dem geschilderten Wege ausserordentliche Schwierigkeiten, zumal die einzelnen phenolartigen Körper des Harns in ihren Verbindungen mit Brom keineswegs genügend bekannt sind.

Es musste deshalb nahe liegen, an Stelle der aus dem Harn dargestellten Phenolkörper die einzelnen gereinigten Körper einer genaueren Untersuchung zu unterziehen.

Wir beschäftigten uns deshalb zunächst mit der Einwirkung von Bromwasser auf reines, durch Destillation rectificirtes Phenol.

Bekanntlich hat Landolt[1]) zuerst die Entstehung von Tribromphenol aus beiden Substanzen nachgewiesen und diese Reaction zur quantitativen Bestimmung benutzt. In der Folge zeigte dann Benedict[2]), dass bei Einwirkung von überschüssigem Bromwasser sich auch bei gewöhnlicher Temperatur ein bromreicheres Phenolderivat bildet, das bei 118° schmolz und als Tribromphenolbrom charakterisirt wurde. Da nun zur vollständigen Ausfällung des Phenols immer Brom in einem wenn auch geringen Ueberschuss verwendet werden muss, so wird sich bei der gewichtsanalytischen Bestimmung des Phenols neben Tribromphenol immer eine gewisse Menge Tribromphenolbrom bilden, worauf schon Seubert[3]) aufmerksam gemacht hat.

Auch Beckurts[4]) kommt zu demselben Resultat und führt diese Thatsache als Grund für die von ihm und seinen Schülern gemachte Beobachtung an, dass bei der quantitativen

---

[1]) Berichte der chem. Gesellschaft, Bd. IV, S. 770,

[2]) Annalen der Chemie, Bd. 199, S. 127.

[3]) Archiv der Pharmacie, Bd. 15, Heft 5, 1881.

[4]) Archiv d. Pharmacie, 1886, 65. Jahrgang, S. 561.

Bestimmung der Phenole als Tribromphenol erheblich grössere Mengen Phenol gefunden wurden, als abgewogen waren. Doch waren die Resultate bei den gleichen Mengen Phenol und den gleichen Bromlösungen sehr wechselnd.

Diesen Befunden stehen allerdings die Beobachtungen von Landolt gegenüber, welcher aus 94 Theilen Carbolsäure 326,5 und 328,1 Theile der Bromverbindung erhielt an Stelle von 331 Theilen, welche die Bildung von Tribromphenol verlangt.

Um nun zunächst selbst die Grösse der Fehler bei dieser Bestimmung kennen zu lernen, veranlasste ich meinen Assistenzarzt Herrn Dr. Martini, bekannte Mengen Phenol nach Landolt mit Bromwasser zu behandeln und dieselben gewichtsanalytisch zu bestimmen.

Zu dieser Analyse dienten zwei Lösungen von Phenol, von welchen die erste 1,7625 gr. im Liter enthielt. Der Gehalt der Lösung an Phenol wurde nach der später zu erwähnenden Methode von Koppeschaar-Beckurts bestimmt. Die zweite Lösung wurde so hergestellt, dass 50 cbcm. der ersten Lösung genau auf ein Volumen von 500 cbcm. gebracht wurden; letztere enthielt somit 0,17625 % Phenol.

Diesen Lösungen wurden 5, 10, 25 und 50 cbcm. entnommen; die einzelnen Proben wurden noch durch Zugabe von Wasser auf etwa 100 cbcm. verdünnt, so dass daraus also ein sehr verschiedener Concentrationsgrad resultirte. Nach der Ausfällung mit Bromwasser im Ueberschuss blieben die Proben zwei Tage lang an dunklem Orte stehen und wurden dann filtrirt. Die Filter waren zuvor über Schwefelsäure in einem Exsiccator, der bis auf 400 mm. Quecksilberdruck evacuirt war, zwei Tage lang getrocknet und darauf gewogen. In gleicher Weise wurden nachher die Bromniederschläge, nachdem sie einen Tag lang im Dunkeln an der Luft getrocknet waren, behandelt und gewogen.

Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht über die erhaltenen und andererseits über die berechneten Werthe.

No. des Versuchs.	Procent-Gehalt der Lösung.	Anzahl der angewandten cbcm.	Gewonnen wurden an Bromniederschlag.	Berechnet war		Als Tribromphenol betrachtet wurde gefunden an Phenol.	Differenz	
				Tribromphenol.	Phenol.		Phenol.	auf % berechnet.
1.	0,17625	5	0,0290	0,0310	0,0088	0,0082	— 0,0006	— 6,82
2.	»	»	0,0340	»	»	0,0097	+ 0,0009	+ 10.23
3.	»	»	0,0316	»	»	0,0090	+ 0,0002	+ 2,27
4.	»	10	0,0696	0,0621	0,0176	0,0198	+ 0,0022	+ 12,50
5.	»	»	0,0704	»	»	0,0200	+ 0,0024	+ 13,64
6.	»	»	0,0712	»	»	0,0202	+ 0,0026	+ 14,77
7.	»	25	0,1658	0,1552	0,0441	0,0471	+ 0,0030	+ 6,80
8.	»	»	0,1618	»	»	0,0460	+ 0,0019	+ 4,31
9.	»	50	0,3324	0,3103	0,0881	0,0944	+ 0,0063	+ 7,15
10.	»	»	0,3214	»	»	0,0913	+ 0,0032	+ 3,63
11.	»	»	0,3236	»	»	0,0919	+ 0,0038	+ 4,31
12.	»	»	0,3314	»	»	0,0941	+ 0,0060	+ 6,81
13.	1,7625	5	0,3588	»	»	0,1019	+ 0,0138	+ 15,66
14.	»	»	0,3658	»	»	0,1039	+ 0,0158	+ 17,95
15.	»	10	0,6846	0,6206	0,1763	0,1944	+ 0,0181	+ 10,27
16.	»	»	0,6762	»	»	0,1920	+ 0,0157	+ 8,91

Diese Versuche von Herrn Dr. Martini zeigen, dass die gefundenen Phenolwerthe im Allgemeinen viel zu hoch sind. Nur der erste Versuch macht in dieser Beziehung eine Ausnahme, die sich vielleicht in der Folge durch weitere Beobachtungen erklärt.

Weiterhin zeigen aber die Versuche, dass die gefundenen Werthe selbst bei der gleichen Menge und der gleichen Versuchsanordnung wesentlich differiren und dass diese Differenz bis zu 17 % bei den einzelnen Versuchen (Vers. 1 und 2) betragen kann.

Worin liegen nun diese Differenzen begründet? Dass dieselben wenigstens zum Theil in der Bildung von Tribromphenolbrom neben dem Tribromphenol beruhen, dürfte keinem Zweifel unterliegen. Die Bildung von Tribromphenolbrom ist aber zweifellos um so beträchtlicher, je grösser der Ueberschuss von Bromwasser ist, ja wenn man nach v. Jaksch's Vorschriften mit bromhaltigem Wasser den Bromphenolniederschlag wäscht, findet noch auf dem Filter ein Uebergang des Tribromphenol in Tribromphenolbrom statt.

Ein genauerer Einblick in diese Vorgänge eröffnete sich uns, als wir in dem kohlensauren Natron ein Mittel gefunden hatten, welches die Bromphenolverbindungen in gleicher Weise trennt, wie einen Theil der gebromten Phenol-Kresolgemische des Harns.

Ein Theil der Bromphenolverbindungen löst sich nämlich in kohlensaurem Natron (10 % Lösung) auf, während ein anderer Theil ungelöst bleibt.

Filtrirt man die in kohlensaurem Natron ungelösten gebromten Phenole ab, so lässt sich der in Lösung gegangene Theil durch Salzsäure wieder zur Ausfällung bringen. Diese in kohlensaurem Natron lösliche Substanz liess sich als Tribromphenol charakterisiren. Wenigstens zeigte dieselbe einen Schmelzpunkt von 92—93° und ergab einen Bromgehalt von 72,12 %, während der berechnete Bromgehalt von Tribromphenol 72,50 % betragen würde.

Wir können somit das kohlensaure Natron in Anwendung ziehen, um das Tribromphenol von den übrigen gebromten

Phenolen zu trennen. Es musste aber auch der Gedanke nahe liegen, das Phenol in kohlensaurem Natron zu lösen und diese Lösung mit Bromwasser zu behandeln in der Erwartung, dass das gebildete Tribromphenol alsbald in Lösung gehen und das Entstehen anderer Bromphenolverbindungen sich durch eine Trübung kenntlich machen werde.

Wenn man nun in dieser Weise verfährt, so zeigt die Beobachtung, dass ausser dem zweifellos in Lösung gehenden Tribromphenol noch andere gebromte Phenole schon vom Beginn der Bromeinwirkung an entstehen. Die Natur dieser Körper liess sich allerdings nur durch Darstellung in grösserer Menge feststellen, indem man unter Vermeidung eines Ueberschusses von Brom Phenollösungen fällte und das Tribromphenol durch Behandeln mit kohlensaurem Natron entfernte.

Ich habe deshalb mit Herrn Apotheker Kleine eine Anzahl dahin gehender Versuche gemacht.

Wir wählten 10 gr. Phenol. Das Phenol war durch Destillation rectificirt worden. Zu deren völliger Bindung würden nach der Formel

$$C_6H_5OH + 3\,Br_2 = C_6H_2Br_3OH + 3\,HBr$$

51,06 gr. Brom nothwendig sein.

Wir wählten deshalb 20, 30, 40 und 50 gr. Brom.

Zu diesem Behuf wurde eine Lösung von 72 gr. Brom in 10,000 Wasser hergestellt. Die Richtigkeit der Lösung wurde auf jodometrischem Wege bestimmt.

Von dieser Lösung erforderten:

20 gr.	Brom	= 1162	cbcm.
30 »	»	= 1743	»
40 »	»	= 2324	»
50 »	»	= 2905	»

Zu dem Versuch I wurden nunmehr 250 cbcm. einer 4% Phenollösung zu 5000 cbcm. mit Wasser verdünnt und in diese Lösung unter fleissigem Umschwenken 1162 cbcm. der Bromlösung = 20 gr. Brom gegossen. Ein besonderer Werth wurde dabei auf das Umschwenken, sowie auf langsames Einfliessenlassen der Bromlösung gelegt.

Der gut ausgewaschene Niederschlag wurde dann mit 150 gr. einer 10 % Sodalösung behandelt, der ungelöste braune Niederschlag abfiltrirt, ausgewaschen, getrocknet und im Soxhlet'schen Apparat mit Chloroform vier Stunden extrahirt. Durch freiwilliges Verdunsten des Chloroforms und nachheriges Trocknen des Rückstandes über H_2SO_4 resultirten 0,0560 gr. einer braunschwarzen Masse.

In gleicher Weise wurden bei den folgenden Versuchen 10 gr. Phenol mit 30,0, 40,0 und 50,0 gr. Brom behandelt, der Niederschlag aus 40,0 gr. Brom und 10,0 gr. Phenol wurde mit 300 cbcm., der aus 50,0 gr. Brom und 10 gr. Phenol wurde mit 400 cbcm. 10 % Sodalösung behandelt.

Bei allen Versuchen ging ein grosser Theil des Niederschlages in Lösung, während ein kleiner Theil ungelöst blieb. Dieser braune Niederschlag wurde in gleicher Weise wie oben geschildert behandelt und mit Chloroform extrahirt.

Dabei ergaben sich bei:

20 gr. Brom	=	0,0560 gr. (siehe oben).
30 » »	=	0,1024 »
40 » »	=	0,1554 »
50 » »	=	0,2123 »

Diese braunschwarze Masse wurde von uns zunächst als ein höher gebromtes Phenol betrachtet, welches von Beginn der Bromeinwirkung auf Phenol neben Tribromphenol entsteht. Indessen hätte man dann erwarten müssen, dass dasselbe die Reaction der höher gebromten Phenole (wie des Tribromphenolbrom) gibt, d. h. bei Zusatz von Jodkali Jod frei macht. Allein die Jodreaction mit Stärkekleister blieb aus. Es dürfte somit nicht gestattet sein, diesen Körper als ein höher gebromtes Phenol anzusprechen.

Die in der Sodalösung gelöste Substanz, welche schon früher als Tribromphenol sich charakterisiren liess, wurde nun durch Uebersättigen mit Salzsäure ausgefällt, gut ausgewaschen und zwischen Fliesspapier und zuletzt über Schwefelsäure getrocknet.

Die Ausbeute betrug bei 20 gr. Brom nur 8,0 gr. Tribromphenol, während der Rechnung nach 13,7 erwartet werden

mussten. Ein nicht unbeträchtlicher Theil der Substanz war somit verloren gegangen.

Das Gleiche war auch bei den weiteren Bestimmungen der Fall.

Aus	30 gr.	Brom	wurden	erhalten	14 gr.,	berechnet	20,5,
»	40 »	»	»	»	20 »	»	27,4,
»	50 »	»	»	»	30,5 »	»	34,2.

Dieser Verlust ist wohl mit Sicherheit darin zu suchen, dass das Tribromphenol in Wasser nicht völlig unlöslich ist.

Die gewonnene Substanz liess sich aus verdünntem Alkohol gut umkrystallisiren und wurde in schönen weissen glänzenden Nadeln erhalten.

Der Schmelzpunkt der Substanz betrug 92°.

Zur Brombetimmung wurden 0,3099 gr. des als Tribromphenol betrachteten Körpers 3 Stunden bei 130° nach Carius behandelt.

Es fand sich nach der Silberbehandlung 0,5254 AgBr = 0,2235 Brom. Daraus berechnet sich ein Bromgehalt von 72,12 %, während derselbe auf 72,5 % der Rechnung nach sich stellen würde.

Dass diese Substanz Tribromphenol ist, dürfte nicht zweifelhaft sein.

Die neben dem Tribromphenol in geringen Mengen gebildete Substanz wurde von uns zunächst für Tribromphenolbrom gehalten. Sie unterscheidet sich von diesem aber durch den negativen Ausfall der Jodreaction bei Zusatz von Jodkalium und Stärkelösung, welche für Tetrabromphenol nach Beckurts und nach eigenen Untersuchungen als charakteristisch bezeichnet werden muss. Wir können deshalb nur annehmen, dass diese bei der Einwirkung von Brom auf Phenol neben dem Tribromphenol direct entstehenden Körper unbekannte gebromte Phenole oder auch Oxydationsstufen des Phenols sind, welche ihre Entstehung dem bei der Bildung von Bromwasserstoff entstehenden Sauerstoff verdanken.

Weiterhin dürfte aus diesen Versuchen folgen, dass bei sorgfältigem Umschütteln der Bromphenolmischung Tribromphenolbrom erst bei überschüssigem Bromgehalt der Flüssig-

keit als Dauerform entsteht. Dass dieses vorübergehend bei dem Einfliessen der Bromlösung geschieht, ist zweifellos, indessen wird das überschüssige Bromatom bei sorgfältigem Umschütteln von dem noch ungebundenen Phenol aufgenommen.

In grosser Menge lässt sich dagegen Tribromphenolbrom erhalten, wenn man eine Phenollösung mit überschüssigem Bromwasser behandelt oder Tribromphenol auf dem Filter mit Bromwasser wäscht. Durch Behandeln der auf diese Weise gewonnenen Substanz mit kohlensaurem Natron lässt sich das Tribromphenol in Lösung bringen und es bleibt dann ein im Gegensatz zum Tribromphenol rothgelber Körper auf dem Filter, welchen man zum grössten Theil als Tribromphenolbrom ansprechen kann.

Auf Thonplatten und zuletzt über H_2SO_4 getrocknet gaben 0,2355 dieser Substanz nach Carius 0,4097 AgBr = 0,1743 Br. Daraus berechnet sich ein Gehalt von 74,01 Brom. Bei einer weiteren Bestimmung dieses Körpers fanden sich 76,81% Brom, während reines Tribromphenolbrom einen Gehalt von 78,04% Brom ergeben müsste. Aus diesen Versuchen muss indessen erwähnt werden, dass der als Tribromphenolbrom angesprochene rothgelbe Körper ausserordentlich rasch sowohl beim Trocknen als beim Umkrystallisiren Veränderungen einging. Diese bestanden darin, dass der ursprünglich rothgelbe Körper sich mit glänzend weissen Nadeln überzog, welche den Charakter von Tribromphenol hatten. Diese Veränderung machte sich um so mehr bemerkbar, je länger die Substanz der Luft und dem Licht ausgesetzt war.

Der Schmelzpunkt der Substanz betrug 115.

Aus diesen Befunden dürfen wir wohl schliessen, dass im Augenblick der Brombestimmung der Körper nur zum Theil aus Tribromphenolbrom bestand. Doch dürfte die theilweise Abgabe eines Bromatoms erst im Verlauf des Trockenprocesses und des Umkrystallisirens erfolgt sein.

Wir hätten somit das Tribromphenolbrom als einen Körper von grosser Unbeständigkeit zu betrachten, welcher sein viertes Bromatom ausserordentlich leicht abgibt. Damit

stimmt die auch von uns constatirte Thatsache überein, dass das vierte Bromatom des Tribromphenolbrom sich gegenüber Jodkali wie freies Brom verhält.

Ueberraschend ist aber in den obigen Versuchen weiterhin, dass wir bei unseren Versuchen mit unterschiessenden Mengen Bromwasser niemals die benutzte Menge Phenol wiederfanden, sondern immer ein beträchtliches Deficit vorhanden war. Es liegt das daran, dass Tribromphenol in Wasser keineswegs unlöslich ist und dass bei fleissigem Auswaschen des Filters noch auf diesem ein Verlust von Tribromphenol statt hat.

Um so überraschender ist es, dass in der Regel bei der Landolt'schen Bestimmung grössere Mengen Phenol gefunden wurden, als verwendet waren. Es kann das nur daran liegen, dass in der Regel überschüssige Mengen Brom, sei es direct, sei es beim Auswaschen, ihre Wirkung entfalten und dass dadurch der Verlust durch in Lösung gegangenes Tribromphenol meist mehr als gedeckt wird, wobei wir von den nebensächlichen Producten ganz absehen. Denn die oben erwähnten geringen Mengen eines unbekannten Körpers, sowie Spuren von Farbstoff, welcher bei der Einwirkung von Brom auf Phenol entsteht und in alkalischer Lösung burgunderroth, in saurer gelb aussieht, dürften eine wesentliche Bedeutung nicht haben.

Jedenfalls sind aber die Fehlerquellen der Landolt'schen Methode so gross und so mannigfach, dass sie schon für reine Phenollösungen nur so lange Bedeutung beanspruchen kann, als eine bessere Methode fehlt.

Somit dürfte die Methode auch für den Harn nur mit grossen Bedenken anwendbar sein.

Diese Bedenken werden nun um so grösser, je weniger genau das Verhalten der anderen Phenolkörper des Harns, der Kresole, gegenüber Brom bekannt ist.

Für die Bestimmung des reinen Phenols ist ja auch eine andere Methode schon vielfach benutzt worden, die

von Koppeschaar[1]) zuerst angegebene und später von Beckurts[2]) begründete maassanalytische Titrirmethode mit Jodkali. Dieselbe beruht auf der schon oben erwähnten Beobachtung, dass das vierte Atom des Tribromphenolbroms sich gegenüber Jodkali wie freies Brom verhält.

Hat man nun eine bekannte, aber überschüssige Menge Brom auf Phenol einwirken lassen, so lässt sich das gebundene Brom als Tribromphenol in Rechnung setzen.

Die bekannte Brommenge kann man nun entweder als Bromwasser von bestimmtem Gehalt oder, was sich mehr empfiehlt, aus einer Mischung von Kaliumbromat und Kaliumbromid unter Zusatz von Schwefelsäure einwirken lassen. Da der Gedanke nahe liegen konnte, diese Methode auch bei den Phenolkörpern des Harns zu benutzen, wurden einige Versuche mit reinem ebenfalls durch Destillation rectificirtem Phenol von mir unter freundlicher Beihülfe von Herrn Dr. Partheil gemacht.

Versuch 1.

15 cbcm. einer Lösung von 2,4228 Phenol (über H_2SO_4 getrocknet) in 1000 cbcm. H_2O werden zur Bestimmung benutzt.

Diese 15 cbcm. enthalten **0,036342** Phenol.

Zu dieser Phenolmenge werden 50 cbcm. einer $^1/_{100}$-Normal-Kaliumbromatlösung und 50 cbcm. einer Kaliumbromidlösung, welche 6 gr. KBr im Liter enthält, hinzugefügt und weiterhin 5 cbcm. concentrirte Schwefelsäure zur Entwicklung des Broms.

Die Entwicklung des Broms erfolgt nach der Formel:
$KBrO_3 + 5\,KBr + 6\,H_2SO_4 = 6\,Br + 6\,KHSO_4 + 3\,H_2O$.

Da nun ein Liter Normal-Kaliumbromatlösung mit 167 Kaliumbromat und der entsprechenden Menge Kaliumbromid 480 Theile Brom entwickeln, so enthält unsere Mischung

[1]) Zeitschrift f. analyt. Chemie, Bd. XV, S. 233.
[2]) Vergleiche oben.

0,24 gr. Brom. Nach einigem Umschütteln und circa 5 Minuten Pause ist die Ausfällung der Phenolbromverbindung beendigt.

Es wurden nun circa 2 gr. Jodkali zugesetzt und die Umsetzung abgewartet.

Das frei gewordene Jod wird alsdann mit Natriumthiosulfat ($^1/_{10}$-Normallösung) in bekannter Weise titrirt:

$$2\,J + 2\,(Na_2S_2O_3 + 5\,H_2O) = 2\,NaJ + Na_2S_4O_6 + 10\,H_2O.$$

Da ein Liter der $^1/_{10}$-Normalnatriumthiosulfatlösung 12,2 Jod entsprechend 8,0 Brom titrirt, so entspricht 1 cbcm. der Lösung 0,008 Brom.

Unser Versuch ergibt nun einen Verbrauch von 6,5 Thiosulfat. Daraus ergibt sich folgende Rechnung:

Brom entwickelt		0,24 gr.
Brom zurücktitrirt		0,0520 »
Bromverbrauch		0,1880 gr.
Daraus berechnet sich die Phenolmenge	=	0,03681 »

Die Abweichung betrifft somit erst die dritte Stelle.

Versuch 2.

Verwendete Phenolmenge		0.036342 gr.
Entwickelte Brommenge		0,24 gr.
Zurücktitrirte Brommenge		0.0448 »
Bromverbrauch		0,1912 gr.
Daraus berechnet sich die Phenolmenge	=	0,0370 »

Versuch 3.

Verwendete Phenolmenge		0,04 gr.
Entwickelte Brommenge		0,24 »
Zurücktitrirte Brommenge		0,0352 »
Verbrauchte Brommenge		0,2048 gr.
Daraus berechnet sich die Phenolmenge	=	0,0401 »

Versuch 4.

Verwendete Phenolmenge		0,04 gr.
Entwickelte Brommenge		0,24 »
Zurücktitrirte Brommenge		0,0356 »
Verbrauchte Brommenge		0,2044 gr.
Daraus berechnet sich die Phenolmenge	=	0,0400 »

Versuch 5.

Verwendete Phenolmenge	**0,025** gr.
Entwickelte Brommenge	0,24 »
Zurücktitrirte Brommenge	0,1104 »
Verbrauchte Brommenge.	0,1296 gr.
Daraus berechnet sich die Phenolmenge . =	**0,0253** »

Versuch 6.

Verwendete Phenolmenge	**0,02428** gr.
Entwickelte Brommenge	0,24 »
Zurücktitrirte Brommenge	0,1160 »
Verbrauchte Brommenge.	0,124 gr.
Daraus berechnet sich die Phenolmenge . =	**0,024283** »

Nach den Ergebnissen dieser Versuche kann man die quantitative Bestimmung des Phenols auf maassanalytischem Wege nach Koppeschaar-Beckurts wohl als eine äusserst genaue bezeichnen.

Es musste sich nun zunächst die Frage aufdrängen, ob die Kresole in ähnlicher Weise der Bestimmung zugänglich sind. Vor Allem kam hier das nach Baumann und Brieger vorwiegend im Harn vorhandene Parakresol in Betracht. Man konnte zunächst daran denken, dass das Parakresol unter überschüssigem Bromwasser innerhalb einiger Tage in Tribromphenol übergeführt wird.

Wir liessen deshalb auf bekannte Mengen von Parakresol überschüssiges Brom mehrere Tage einwirken und versuchten dann den Ueberschuss zurückzutitriren. Aber das Resultat dieser Versuche war ein wenig erfreuliches; die Resultate stimmten weder mit der angewandten Menge, noch zeigten sie gleichmässige Abweichungen, welche in Rechnung gesetzt werden konnten. Auch Gemische von bekannten Mengen Phenol und Parakresol ergaben keine verwerthbaren Resultate. Diese Untersuchungen weisen darauf hin, dass das Parakresol sich gegenüber Bromwasser keineswegs wie das Phenol verhält, wie das auch Beckurts bereits erwähnt hat.

Nach dem negativen Resultat dieser Untersuchungen behandelten wir abgewogene Mengen Parakresol mit über-

schüssigem Bromwasser, indem wir die Mischung 8 und 10 Tage in warmem Zimmer stehen liessen. Wir hofften dadurch eine grössere Menge des Parakresols nach Baumann und Brieger in Tribromphenol überzuführen, zumal sich bei diesem Vorgang die von Baumann und Brieger beschriebene Bildung von Gasperlen in reicher Menge beobachten liess. Dann wurde der Niederschlag auf das Filter gebracht und nach dem Auswaschen mit 10 % Sodalösung behandelt, wobei sich ähnlich dem Befund bei der gleichen Behandlung reinen Phenols auch hier ein in alkalischer Lösung burgunderrother, in saurer Lösung gelber Farbstoff zeigte.

Nach den Ergebnissen der Phenoluntersuchung musste man nun erwarten, dass das aus dem Parakresol etwa entstandene Tribromphenol in Soda sich lösen und nach Zusatz von Salzsäure wieder ausscheiden werde. Es liess sich auch auf diese Weise ein in weissen glänzenden Nadeln krystallisirender Körper gewinnen, welcher eine gewisse Aehnlichkeit mit Tribromphenol hatte, aber etwas schwerer als dieses durch HCl ausgeschieden wurde.

Aus Alkohol und Benzin liess sich dieser Körper leicht umkrystallisiren. Aber der Schmelzpunkt desselben betrug nicht 92—93° wie derjenige des Tribromphenols, sondern 48—49°. Zur Brombestimmung wurden 0,1702 gr. verwendet, nachdem das Gewicht über H_2SO_4 constant geworden war. Es fanden sich 0,2383 gr. $AgBr$. Dieser Gehalt entspricht 59,57 % Brom. Nach diesen Untersuchungsergebnissen können wir die in kohlensaurem Natron lösliche Bromparakresolverbindung nur als ein Dibromparakresol betrachten.

Die in kohlensaurem Natron unlösliche Bromparakresolverbindung unterschied sich von dem Dibromparakresol zunächst durch ihre gelbe Farbe, die auch bei mikroskopischer Untersuchung in Form von gelben Plättchen und Schollen deutlich hervortrat. Indessen machte diese Substanz den Eindruck grosser Unbeständigkeit, indem sich insbesondere an der Berührungsfläche mit Luft aus den gelben Schollen weiss glänzende Nadeln entwickelten.

Zur genaueren Untersuchung wurde die Substanz in Alkohol und Benzin gelöst. Die Lösung zeigte eine rothbraune Farbe, welche im Verlaufe des Verdunstungsprocesses nachdunkelte. Dann bedeckte sich der innere Rand und Boden des Gefässes mit silberglänzenden Krystallen, während unter den Krystallen eine dunkelbraune amorphe Masse zurückblieb.

Ganz überraschend war die grosse Aehnlichkeit, welche diese in kohlensaurem Natron unlösliche Bromparakresolverbindung mit dem aus dem Harn dargestellten, ebenfalls in Na_2CO_3 unlöslichen Bromkörper hatte.

Die Untersuchung des Bromgehaltes der auskrystallisirten und über H_2SO_4 getrockneten Substanz ergab nun Folgendes:

0,2316 gr. ergaben nach Carius 0,3251 gr. Bromsilber. Daraus berechnet sich ein Bromgehalt von 59,80 % Brom. Nach diesem Befund müssen wir den Körper ebenfalls als Dibromparakresol ansprechen. Indessen stimmte der Schmelzpunkt damit nicht völlig überein. Es trat bei 50° ein Zusammensintern ein, doch war ein völliges Schmelzen auch bei 68° noch nicht eingetreten.

Von der dunkelbraunen amorphen Masse konnte nur der Schmelzpunkt untersucht werden. Nach dem Umkrystallisiren aus Ligroin schmolz die Substanz etwa bei 118°; doch trat schon vorher eine theilweise Zersetzung mit Entwicklung von Bromdämpfen auf.

Das Ueberraschendste dürfte wohl sein, dass sowohl der in Na_2CO_3 lösliche, wie der unlösliche Bromparakresolkörper die gleiche chemische Zusammensetzung ergaben.

Es kann möglicher Weise eine verschiedene chemische Structur der beiden Bromkresole die Veranlassung zu diesem Verhalten sein — es kann aber der Grund auch darin liegen, dass der in kohlensaurem Natron unlösliche Körper ursprünglich höher gebromt war und später sehr rasch sein Brom abgegeben hat. Es lässt daran vor Allem der Befund von Baumann und Brieger denken, welche bei

Behandlung von Parakresol mit überschüssigem Bromwasser eine vierfach gebromte Verbindung fanden, die allerdings beim Aufbewahren sehr bald einen Verlust an Brom erlitt.

In ganz gleicher Weise zeigte auch die von uns gewonnene in kohlensaurem Natron unlösliche Bromparakresolverbindung eine Abspaltung von Brom und die Bildung von silberglänzenden Nadeln aus gelben Plättchen. Damit näherte sich der ursprünglich hohe Schmelzpunkt demjenigen des Dibromparakresols und nur der amorphe, gegenüber Luft und Licht geschützte Rest zeigte einen Schmelzpunkt von etwa 118°.

Dass der Schmelzpunkt nicht völlig demjenigen des Dibromparakresols gleich geworden war, dürfte an geringen Verunreinigungen liegen, welche den Krystallen anhafteten.

Es ist uns somit nicht gelungen, durch Behandeln von reinem Parakresol mit Bromwasser Tribromphenol zu erhalten; wir erhielten vielmehr zwei Körper, von welchen der eine reines Dibromparakresol ist, während der zweite ursprünglich als ein höher gebromtes Parakresol zu betrachten ist, welches aber nach einiger Zeit unter Abspalten von Brom ebenfalls in Dibromparakresol übergeht.

Versuchen wir zum Schluss eine kurze Uebersicht über die gewonnenen Resultate zu geben, so lässt sich Folgendes sagen:

Die quantitative gewichtsanalytische Bestimmung von reinem durch Destillation gewonnenen Phenol als Tribromphenol kann in keiner Weise als eine genaue und wissenschaftlichen Anforderungen entsprechende bezeichnet werden, während die Bestimmung nach Koppeschaar-Beckurts durch Titration mit Jodkali ausserordentlich scharf ist.

Der Versuch, Parakresol in Tribromphenol überzuführen und als solches zu bestimmen, erwies sich als unausführbar. Auch eine maassanalytische Bestimmung des Parakresols erwies sich einstweilen als nicht ausführbar.

Unter solchen Verhältnissen ist eine genaue quantitative Bestimmung der Phenolkörper des Harns auf dem seitherigen Wege unmöglich.

Damit will ich indessen keineswegs die seitherigen Bestimmungen von Munk, Brieger, Salkowski für werthlos erklären. Die Differenzen, welche in der Norm und in pathologischen Fällen von sorgfältigen Forschern bei Befolgung der gleichen Methode gefunden sind, dürften sich keineswegs durch die Fehlerquellen der Methode erklären. Immerhin müssen wir für die Zukunft darnach trachten, eine bessere Methode an die Stelle der jetzt geübten zu setzen.

Vielleicht bietet die von Baumann zu anderem Zweck unternommene Ueberführung der Phenole und Kresole in ihre Sulfosäuren bessere Aussichten.

Haben somit unsere eigenen Untersuchungen der Bromphenol- und Bromparakresolverbindungen eine bessere Methode der quantitativen Bestimmung der Phenolkörper des Harns nicht ergeben, so dürfte doch ein Rückblick auf die aus dem Harn dargestellten Bromverbindungen am Platze sein.

Ausser einem Farbstoff fanden wir zwei Körper, von welchen der in kohlensaurem Natron unlösliche sich als Dibromkresol charakterisiren liess. Die Aehnlichkeit mit der später dargestellten, in Na_2CO_3 unlöslichen Bromparakresolverbindung bezüglich des anfangs hohen, später tiefer werdenden Schmelzpunktes, bezüglich der Bromabgabe, der Bildung von silberglänzenden, absolut gleichen Krystallen, des Bromgehaltes dieser ist so gross, dass wir die gewonnene Bromverbindung des Harndestillates wohl ohne Bedenken als Dibromparakresol ansprechen können. Da dieser Körper an Menge die übrigen übertraf, so dürfte das Parakresol wohl den Hauptbestandtheil der Phenolkörper des Harns ausmachen, wie dieses auch sowohl Baumann als Brieger schon angegeben haben. Die weitere aus dem Harndestillat dargestellte Bromverbindung charakterisirt sich durch ihren Schmelzpunkt keineswegs als Tribromphenol. Eine genauere Untersuchung dieses Körpers steht noch aus. Doch lässt sich schon jetzt ver-

muthen, dass es sich um ein Gemisch von niedrig gebromten Kresolen eventuell mit Phenolen handelt.

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, meinen verehrten Collegen Herren Professor E. Schmidt und Professor Th. Zincke, sowie Herrn Dr. Partheil, Assistent am pharmazeutisch-chemischen Institut dahier, für ihren mannigfachen freundlichen Rath und ihre liebenswürdige Unterstützung meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Ueber den Nachweis und das Vorkommen von Pepton in den Organen und dem Blute von Leukämischen.

Von

Prof. Dr. R. v. Jaksch (Prag).

(Der Redaction zugegangen am 7. December 1891.)

Bis vor Kurzem bediente man sich wohl allgemein zum Nachweise des Peptons in den Secreten der seinerzeit von Hofmeister[1]) angegebenen Methode.

Im Laufe dieses Jahres hat nun Devoto[2]) eine Methode ausgearbeitet, welche in viel einfacherer Weise den sicheren Nachweis von Pepton im Harn gestattet.

In einer weiteren Mittheilung hat dann Devoto[3]) angegeben, dass es ihm mit seiner Methode nicht gelang, Pepton in dem dem Lebenden entzogenen Blute des Leukämischen nachzuweisen.

Herr Docent Dr. Wagner[4]) aus Petersburg untersuchte im letzten Sommersemester auf meine Veranlassung mittels des von Devoto angegebenen Verfahrens das Blut, welches Kranken in bekannter Weise mittels blutiger Schröpfköpfe entzogen wurde, in einem Falle von Leukämie, in zwei Fällen von Tuberculose, einem Falle von Nephritis, einem Falle von Peritonitis tuberculosa und einem Falle von Pericarditis. Das Resultat war in allen Fällen negativ. Auch im faulenden Blute wurde kein Pepton gefunden, wohl aber im faulenden Blute bei einem Falle von Leukämie. Die letzte Beobachtung

[1]) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 4, S. 253, 1880.

[2]) Devoto, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 15, S. 465, 1891.

[3]) Devoto, Rivista clinica, Archivio italiano di clinica med., vol. 30, Sonderabdruck, 1891.

[4]) Wagner, Briefliche Mittheilung.

steht im Einklange mit den Angaben von Ludwig[1]) und mir[2]) über das Vorkommen von Pepton im Leichenblute Leukämischer.

Zwei bemerkenswerthe Fälle von Leukämie, die im Beginne des Wintersemesters 1891 auf meiner Klinik in Beobachtung standen, gaben mir Veranlassung, mich selbst mit diesen Fragen zu beschäftigen.

Bei dem ersten dieser Fälle handelte es sich um einen Fall von Leukämie, der mit Diabetes und chronischer Nephritis complicirt war[3]). In diesem Falle ergab die Untersuchung des Blutes an gefärbten Präparaten nur wenige eosinophile Leukocyten, auffallend wenig polynucleäre Zellen, und eben diese Zellen sind es, welche eosinophile Granula tragen, ferner sehr viele kleine gleichmässig granulirte weisse Blutzellen.

Ich habe nun durch die Untersuchung der Organe, des Blutes und einiger Secrete des oben erwähnten an Leukämie verstorbenen Patienten einerseits Aufschlüsse erhalten über das Vorkommen von Pepton in den Geweben bei dieser Erkrankung, anderseits haben sich aber bei der gleichzeitigen Verwendung der Hofmeister'schen und Devoto'schen Methode gewisse Differenzen in den Resultaten ergeben, so dass ich es für nothwendig erachte, auch diese Resultate mitzutheilen.

Ich betone zugleich, dass ich mir keine Mühe gegeben habe, diese Differenz aufzuklären, da mich die ganze Frage nur so weit interessirte und interessirt, als zu erforschen war, ob auch für den Nachweis von Pepton in den Geweben die so einfache und elegante Methode von Devoto sich verwenden lässt, d. h. die mit ihr erzielten Resultate im Einklange stehen mit jenen, welche man durch die Jahre lang erprobte und allgemein als brauchbar befundene Hofmeister'sche Methode erhält.

---

[1]) Ludwig, Wiener med. Wochenschr., Bd. 31, S. 122, 1881.

[2]) v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 6, S. 423, 1883.

[3]) Wegen des besonderen klinischen Interesses, welches diesem Falle zukömmt, wird er an anderem Orte noch ausführlich publicirt werden.

[4]) Für die Ueberlassung des zu diesen Untersuchungen nothwendigen Leichenmaterials bin ich Herrn Collegen Chiari zu besonderem Danke verpflichtet.

Es gliedern sich demnach meine Studien in 2 Reihen:

1. Untersuchung der Leber, der Milz, des Leichenblutes und des faulenden Blutes des Leukämischen auf Pepton nach Hofmeister's Methode;

2. Untersuchung derselben Organe und des Blutes auf Pepton nach der Methode von Devoto.

Die Untersuchungen nun, welche in bekannter Weise nach der Methode von Hofmeister mit der möglichst grössten Exactheit durchgeführt wurden, ergaben, dass die bei einer Temperatur von 33—40° C. erhaltenen Wasserextracte von Leber und Milz sehr reich an Pepton waren, desgleichen erwiesen sich die Heisswasserextracte dieser Organe als ungemein reich an Pepton.

Es dürfte nicht überflüssig sein, die Details der Untersuchung hier anzuführen:

1. 770 gr. Lebersubstanz werden in kleine Stücke zerschnitten, dann zerrieben und längere Zeit mit 2000 cbcm. Wasser bei einer Temperatur von 33—40° C. am Wasserbade digerirt. Dann wird die Flüssigkeit durch eine mehrfache Schichte von dichter Leinwand filtrirt und 900 cbcm. nach der Hofmeister'schen Methode auf Pepton untersucht. (900 cbcm. werden der Behandlung nach der Devoto'schen Methode unterworfen.) Nach Fällung mit Eisenchlorid und Natriumacetat, Neutralisation und Aufkochen zeigt sich das Filtrat absolut frei von mit Ferrocyanwasserstoff fällbaren Eiweisskörpern. Bei weiterer Bearbeitung lässt sich Pepton in sehr grosser Menge nachweisen.

2. 770 gr. Milchsubstanz ebenso behandelt wie das Lebergewebe erweisen sich ebenfalls reich an Pepton. Es werden also 900 cbcm. des Milzextractes verwendet u. s. w. (900 cbcm. werden der Devoto'schen Methode unterworfen.)

3. Der Rückstand des Lebergewebes wird dann mit 2 Liter Wasser ausgekocht und 900 cbcm. mit Hofmeister's Vorgehen auf Pepton geprüft. Das Enteiweissungsverfahren muss zweimal wiederholt werden. Das dann keine mit Ferrocyanwasserstoff fällbare Substanzen enthaltende Filtrat gibt eine prachtvolle Biuretreaction und erweist sich bei der weiteren Verarbeitung als reich an Pepton.

4. Der Rückstand des Milzgewebes wird mit 2 Litern Wasser ausgekocht und sonst genau so verfahren wie mit 3. Auch da muss das Enteiweissungsverfahren zweimal wiederholt werden. Das dann vollkommen eiweissfreie Filtrat erweist sich als enorm reich an Pepton.

Die Untersuchungen, welche in genau analoger Weise mit der Methode von Devoto ausgeführt wurden, ergaben in den bei einer Temperatur von 33—40° C. erhaltenen wässerigen Extracten der Leber und Milz des an Leukämie verstorbenen Kranken kein Pepton. In den mit heissem Wasser extrahirten Geweben wurden geradezu enorme Mengen von Pepton gefunden.

Ich lasse die Details der Beobachtungen folgen:

5. Leberextract, Filtrat 900 cbcm. genau in derselben Weise erhalten wie 1, werden mit 720 gr. Ammoniumsulfat am Wasserbade längere Zeit erwärmt, dann in heissen Dampf von 100° C. (Budenberg'schen Apparat) gebracht und in bekannter Weise weiter verfahren. Das Filtrat, welches die gesättigte heisse Ammonsulfatlösung enthält, erweist sich als eiweissfrei. Beim Behandeln des Rückstandes mit heissem Wasser ergibt das Filtrat sofort eine intensive Trübung mit Essigsäure und Ferrocyankalium und Biuretreaction. Dieses Filtrat wird neuerdings mit Ammoniumsulfat gefällt, erweist sich dann in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt als absolut eiweissfrei, gibt aber keine, auch nicht die leichteste Biuretreaction.

6. Milzextract, Filtrat 900 cbcm. genau in derselben Weise erhalten wie 2, verhält sich bei der Behandlung mit der Devoto'schen Methode genau so wie 5, also auch hier muss die Procedur wiederholt werden, das schliesslich restirende eiweissfreie Filtrat gibt absolut keine Biuretreaction.

7. Leberextract, Filtrat 900 cbcm. genau in derselben Weise erhalten wie 3. Nach einmaliger Behandlung mit 720 gr. Ammoniumsulfat ist das aus dem Niederschlage nach Behandeln mit heissem Wasser resultirende Filtrat eine Spur trüb, auf Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium erfolgt keine Zunahme der Trübung, das Filtrat gibt eine äusserst intensive rothe Biuretreaction.

8. Milzextract, Filtrat 900 cbcm. genau in derselben Weise erhalten wie 4, verhält sich genau wie 7, wir finden sehr viel Pepton.

Ich lasse nun noch Beobachtungen folgen, welche mit einem an Leukocyten ziemlich reichen Transsudat, das der Bauchhöhle desselben Leukämischen entstammte, ausgeführt wurden:

9. 875 cbcm. frisches Transsudat nach der Hofmeister'schen Methode verarbeitet erweisen sich frei von Pepton.

10. 875 cbcm. derselben Flüssigkeit zeigen nach der Methode von Devoto verarbeitet keine Anwesenheit von Pepton.

11. 875 cbcm. derselben Flüssigkeit nach 12tägigem Stehen bei Zimmertemperatur nach Hofmeister untersucht, kein Pepton.

12. 875 cbcm. von genau derselben Beschaffenheit wie 11 nach Devoto untersucht zeigen in dem heissen und kalten Waschwasser, welches keine Spur einer Fällung mit Ferrocyankalium und Essigsäure gibt, eine minimale Biuretprobe, welche mir für die Anwesenheit von Pepton nicht beweisend schien.

Nach diesen differenten Resultaten, welche ich erhielt, schien es mir angemessen, an Flüssigkeiten, welche erfahrungsgemäss reich an Pepton sind, noch einmal beide Methoden durchzuprüfen. Es wurde entsprechend dem oben Gesagten Eiter dazu verwendet.

13 800 cbcm. Flüssigkeit, welche aus 500 cbcm. aus der Pleurahöhle entleertem frischen Eiter und 300 cbcm. Wasser besteht, ergeben nach Hofmeister's Methode behandelt reichen Peptongehalt.

14. 800 cbcm. derselben Flüssigkeit nach Devoto auf Pepton untersucht ergeben dasselbe Resultat.

Ich möchte an dieser Stelle erwähnen, dass je 500 cbcm. Harn dieses Falles von Leukämie weder nach Hofmeister's (Versuch 15) noch nach Devoto's Methode (Versuch 16) untersucht Pepton zeigten und diese Beobachtung mit meinen früheren Angaben vollkommen in Einklang steht [v. Jaksch[1])], dass ferner auch je 200 cbcm. Harn eines Falles von schwerer Phosphorvergiftung, welche nach Hofmeister's und Devoto's Methode untersucht wurden, übereinstimmende Resultate ergaben, und zwar fand sich in diesem Falle kein Pepton im Urin (Versuch 17 und 18).

Obwohl schon Beobachtungen in der Litteratur (Ludwig) existiren, dass die normale menschliche Leber kein Pepton enthält, so schien es mir wichtig, nochmals solche Beobachtungen zu machen, desgleichen auch einen Controllversuch mit normalem Milzgewebe auszuführen.

Zu diesem Zwecke wurden 750 gr. Leber eines normalen Menschen, welcher einer Verletzung erlegen war, auf Pepton verarbeitet. Das Resultat war negativ. Allerdings muss ich erwähnen, dass die zur Untersuchung verwandte Leber bereits

---

1) R. v. Jaksch, Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. 6, S. 413, 1883.

in beginnender Fäulniss sich befand. Ich lasse wieder die Details der Beobachtung folgen[1]):

19. 750 gr. zerkleinertes und zerriebenes Lebergewebe werden mit 2000 cbcm. Wasser bei 33—40° C. digerirt, dann durch Leinwand filtrirt. 750 cbcm. dieser Flüssigkeit werden dem Hofmeister'schen Verfahren unterworfen; erst nach dreimaliger Wiederholung ist das Filtrat eiweissfrei und erweist sich als frei von Pepton.

20. 900 cbcm. derselben Flüssigkeit wie in 19 der Methode von Devoto unterworfen erweist sich nach bereits einmaliger Verarbeitung als eiweissfrei und enthält kein Pepton.

21. Der Rückstand des Lebergewebes wird genau so behandelt wie 3 und 800 cbcm. dem Verfahren von Hofmeister unterworfen; nach dreimaliger Wiederholung des Verfahrens ist das Filtrat eiweissfrei, enthält aber kein Pepton.

22. 800 cbcm. Flüssigkeit, erhalten wie 21, werden dem Verfahren von Devoto unterworfen; nach dreimaliger Wiederholung ist das Filtrat trüb, aber eiweissfrei, und gibt keine Biuretreaction.

Ein Controllversuch, der mit einer von einem gesunden Menschen stammenden Milz vorgenommen wurde, ergab, dass dieselbe nach dem Resultate beider Methoden sehr reich an Pepton war. Sowohl in dem mit Wasser von 33—40° C. erhaltenen Extracte, als in den Heisswasserextracten fand sich viel Pepton. Auch das Material zu diesem Versuche verdanke ich dem Herrn Collegen Paltauf.

23. 182 gr. frischer Milzsubstanz werden zerschnitten und zerrieben und dann mit einem Liter Wasser längere Zeit bei 33—40° C. digerirt. Die erhaltene Flüssigkeit wird durch Leinwand filtrirt und 450 cbcm. nach Hofmeister's Vorgang auf Pepton untersucht. Resultat positiv.

24. 450 cbcm. ebenso erhalten wie 23 und nach Devoto untersucht. Resultat positiv.

25. Der Rückstand des Milzgewebes wird mit einem Liter Wasser gekocht und durch Leinwand filtrirt. 450 cbcm. nach Hofmeister untersucht. Resultat positiv.

26. 450 cbcm. ebenso erhalten wie 25, nach Devoto auf Pepton untersucht. Resultat positiv.

Aus diesen 8 Beobachtungen ergibt sich, dass Milz und Lebergewebe sich anscheinend ganz different verhalten; die

[1]) Für die Ueberlassung des zu dieser Untersuchung nöthigen Materiales spreche ich Herrn Collegen Paltauf meinen besten Dank aus.

Zahl der Versuche ist viel zu gering, um bindende Schlüsse zu ziehen. Insoweit diese Beobachtungen sich im Rahmen meiner anderen hier niedergelegten Untersuchungen verwerthen lassen, komme ich später (Siehe S. 252) noch auf dieselben zurück.

Ich führe nun die Beobachtungen auf, welche ich an dem Blute dieses an Leukämie leidenden und dieser Krankheit erlegenen Kranken ausgeführt habe:

27. 20 gr. mittels Schröpfköpfe dem Kranken entzogenes Blut nach Devoto's Methode auf Pepton untersucht gibt ein negatives Resultat: weder im heissen, noch kalten eiweissfreien Waschwasser ist auch nur eine Spur von Biuretreaction nachzuweisen. Eine einmalige Behandlung mit Ammoniumsulfat genügt, um alles Eiweiss zu coaguliren. Es wurden zu diesem Zwecke die 20 gr. Blut mit 18 gr. Ammonsulfat verrieben.

28. 100 gr. Leichenblut (21½ Stunden nach dem Tode) nach Hofmeister verarbeitet — bereits nach einmaliger Durchführung des Enteiweissungsverfahrens ist das Filtrat absolut eiweissfrei — ergibt die Anwesenheit von Pepton.

29. 100 gr. des gleichen Blutes — wie 28 nach Devoto verarbeitet — zeigen im eiweissfreien Filtrate keine Spur einer Peptonreaction.

30. 100 gr. faulendes Blut — 5 Tage nach dem Tode des Kranken, 4 Tage nach der ersten Untersuchung — nach Hofmeister verarbeitet gibt bereits im eiweissfreien Filtrate enorme Biuretreaction und erweist sich auch nach der weiteren Verarbeitung als sehr reich an Pepton.

31. 100 gr. desselben Blutes (Versuch 30) nach Devoto untersucht gibt keine Spur einer Biuretreaction. Die Procedur muss zweimal wiederholt werden, da bei Behandeln des Rückstandes am Filter mit heissem Wasser Eiweiss mit durchpassirt.

32. 72 gr. desselben Blutes werden 13 Tage nach dem Tode des Kranken neuerdings nach der Methode von Devoto untersucht. Nach zweimaliger Durchführung der Methode erhält man ein eiweissfreies Filtrat, welches keine Biuretreaction ergibt.

Diese Beobachtungen zeigen, dass das Leichenblut dieses Leukämischen Pepton enthielt, dass ferner der Peptongehalt beim Faulen des Blutes anscheinend wesentlich zunimmt, aber es finden sich oder scheinen sich nur solche Peptonkörper vorzufinden, welche mittels des Hofmeister'schen Verfahrens sich nachweisen lassen.

Kurze Zeit darauf führte mir der Zufall einen zweiten Fall von Leukämie in die Hände. Es handelte sich um einen Mann mit Symptomen von vorwiegend lienaler Leukämie; das Interessanteste an dem Casus war die enorme Menge eosinophiler Granula, welche ich theils an die weissen Blutzellen gebunden, theils frei im Blute vorfand.

55 gr. dem Kranken mittels blutiger Schröpfköpfe entzogenen Blutes werden in 500 cbcm. Wasser gelöst, die eine Hälfte mittels der Methode von Hofmeister, die andere mittels Devoto's Methode auf die Anwesenheit von Pepton geprüft.

Ich lasse wieder die Details der Untersuchung folgen:

33. 55 gr. frisches Blut werden in 500 cbcm. Wasser gelöst. 250 cbcm. der Flüssigkeit werden nach Hofmeister auf Pepton verarbeitet; nach zweimaliger Fällung mit Eisenchlorid etc. gibt das Filtrat keine Spur einer Fällung mit Ferrocyanwasserstoff, aber intensiv die Biuretprobe, dementsprechend erweist sich bei weiterer Untersuchung das Blut enorm reich an Pepton.

34. 250 cbcm. derselben Flüssigkeit (Versuch 33) in bekannter Weise nach Devoto verarbeitet erweisen sich als eiweissfrei, geben eine ganz exquisite Biuretprobe und zwar findet man Pepton sowohl im heissen als kalten Waschwasser.

Die Beobachtung zeigt, dass in diesem Falle im Gegensatz zu den früher von Devoto[1]), Wagner[2]) und mir (Versuch 27) untersuchten Fällen mittels Devoto's Methode Pepton im leukämischen Blute sich nachweisen liess, und auch Hofmeister's Methode ein positives Resultat ergab.

Gegen die oben angeführte Beobachtung (Versuch 27), welche ein negatives Resultat ergab, könnte man nun anführen, dass das negative Resultat nichts beweist, da nur 20 gr. Blut verwendet wurden und dies eine zu geringe Menge sei, um den Nachweis von Pepton zu gestatten. Der Versuch 33 zeigt, dass auch in annähernd so geringen Blutmengen (27,5 gr.) Pepton mittels Devoto's Vorgehen sich nachweisen lässt; allerdings besteht aber in der Ausführung der Methode eine Differenz, die ich anführen muss.

---

[1]) Devoto, l. c.
[2]) Wagner, l. c.

In dem Versuche 27 wurde direct das Blut verarbeitet, ebenso in allen folgenden Versuchen bis 32. Allerdings bringt es ja Hofmeister's Methode mit sich, dass das Blut vorher verdünnt wird, wenn auch nur durch Reagentien.

Vielleicht könnte die Differenz der Resultate der Devotoschen Methode in diesen Beobachtungen in der Art der Ausführung liegen und zwar darin, dass ich das eine Mal mit Wasser verdünnte (Versuch 34), das andere Mal nicht (Versuch 27). Ich habe deshalb nochmals demselben Leukämiker Blut entnommen und folgenden Versuch gemacht.

Ich halte es wieder nicht für unnöthig, die Details der Beobachtung anzuführen.

Dem an Leukämie leidenden Kranken wurden 79 gr. Blut entzogen.

35. 56 gr. dieses Blutes werden in 250 cbcm. Wasser gelöst und Devoto's Verfahren unterworfen. Das heisse sowohl als das kalte Waschwasser sind frei von mit Ferrocyanwasserstoff fällbaren Eiweisskörpern, geben jedoch exquisite Biuretreaction.

36. 23 gr. desselben Blutes werden mit 18,5 gr. Ammonsulfat versetzt und dem Verfahren nach Devoto unterworfen. Im heissen Waschwasser, welches mit Essigsäure und Ferrocyankalium keine Reaction gibt. tritt exquisite Biuretreaction auf.

Das Blut war demnach enorm reich an Pepton. Diese früher angeführte Beobachtung (Versuch 27) erscheint dadurch nun in anderem Licht und erhält eine andere Bedeutung, wenn man dagegenhält, dass in diesem zweiten Falle bei Verwendung von Devoto's als Hofmeister's Methode in je 27,5 gr. zu einer Untersuchung verwandten frischen Blutes Pepton mit Sicherheit nachgewiesen wurde, dass ferner in einer weiteren mit demselben Blute ausgeführten Untersuchung — und zwar 23 gr. (Versuch 36) genau so verarbeitet nach Devoto wie in Versuch 27 — positive Resultate erzielt wurden.

Mit diesem Befunde wird es unwahrscheinlich, dass im ersterwähnten, von mir untersuchten Falle, weiter in den hier citirten Beobachtungen von Devoto und Wagner nur deshalb kein Pepton gefunden wurde, weil die Menge des in dem Versuche angewandten Blutes zu gering war oder weil

durch Devoto's Vorgehen kein Pepton sich nachweisen liess, sondern mir scheint es wahrscheinlicher, oder man könnte daran denken, dass Differenzen im klinischen Bilde, im Verlaufe etc. die Ursache abgegeben für die differenten Befunde in chemischer Beziehung.

Ueber Devoto's Fall ist mir nichts Näheres bekannt. Der von Wagner untersuchte Fall betraf eine Frau mit typischer Leukämie: lienale, lymphatische und myelogene Form. Ich will kurz die wichtigsten Befunde aus dem mir vorliegenden Krankheitsprotocolle über diesen Fall anführen.

In dem Falle wurden relativ wenig, ja fast keine eosinophilen Zellen gefunden. Ebenso verhielt sich der von mir bereits angeführte Fall, bei welchem ich kein Pepton im Blute (Siehe S. 249) fand, dagegen fanden sich im Blute jenes Falles, in welchem das Blut reich an Pepton war, enorme Mengen von eosinophilen Granulis im Blute (Siehe S. 250): sonst aber zeigten die Fälle in ihrem Verlaufe, desgleichen in dem klinischen Bilde, keine wesentlichen Differenzen. Nach alldem kann es scheinen, dass bei einem gewissen Blutbefund als dem Auftreten von enorm vielen eosinophilen Zellen und eosinophiler Granula bei Leukämie Pepton im Blute zu erwarten wäre.

Bisher liegen in der Litteratur nur spärliche Beobachtungen vor — und diese sind zum Theil mit nicht exacten Methoden ausgeführt — über das Vorkommen von Pepton in den Geweben und im Blut von Leukämischen. Auch über das Verhalten des Blutes und der Gewebe bei gesunden Individuen besitzen wir nur spärliche Beobachtungen. Dass gerade aber hier die Verhältnisse ziemlich complicirt sind, zeigen die 2 Beobachtungen, welche ich hier angeführt habe. Es wäre jedoch von grosser Wichtigkeit, zu erfahren, ob die Differenz, welche ich in Bezug auf das Verhalten der Leber und Milz normaler Menschen gefunden habe, also: die Leber peptonfrei, die Milz reich an Pepton, wirklich vorhanden ist oder darin ihre Erklärung findet, dass die verarbeitete Leber schon bei beginnender Fäulniss, die Milz in ganz frischem Zustande untersucht wurde. Damit aber komme ich auf das

interessante Capitel von dem Entstehen und Zerstörtwerden des Peptons bei Fäulnissprocessen, welches noch sehr der Bearbeitung bedarf.

Ich will nun jene einschlägigen Beobachtungen berücksichtigen, denen eine Bedeutung heute noch zukömmt. So fand Pekelhäring[1]) Pepton im Blute, Salkowski[2]) in der Leber und Milz bei Leukämie, ferner in einer Leber[3]) bei acuter gelber Leberatrophie, dann Bockendahl[4]) und Landwehr[4]), Miura[5]) in der Leber Septischer, weiter Ludwig[6]) in den Organen bei Leukämie. Diese von mir hier gemachten Beobachtungen ergänzen und erweitern diese uns schon bekannten Thatsachen.

So ergeben diese Untersuchungen, dass Leber und Milz Leukämischer ungemein reich an peptonartigen Substanzen sind, dass aber dem leukämischen Processe als solchem dieses Symptom nicht zukommt; in einer von einem normalen Menschen stammenden, bereits in beginnender Fäulniss befindlichen Leber konnte ich allerdings weder durch Hofmeister's noch Devoto's Vorgehen Pepton nachweisen; dagegen erwies sich normales Milzgewebe als reich an Pepton. In Bezug auf das Leichenblut Leukämischer werden durch diese Untersuchungen die älteren Beobachtungen von Ludwig und mir bestätigt und dahin erweitert, dass im frischen, unmittelbar vor der Verarbeitung dem Körper entzogenen Blute Pepton sich findet — jedoch nicht in allen Fällen. Dasselbe liess sich dann durch beide nun gebräuchlichen Methoden gleich sicher nachweisen. Im Leichenblute konnte ich durch Devoto's Vorgehen kein Pepton nachweisen, obwohl Hofmeister's Methode die Anwesenheit sehr grosser Mengen ergab, welche nach den Resultaten dieser Methode bei der Fäulniss anscheinend noch zunahm.

---

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 26, S. 251, 1882.

[2]) Salkowski, Virchow's Archiv, Bd. 81, S. 166, 1881.

[3]) Salkowski, ibidem, Bd. 88, S. 394; Bd. 89, S. 192.

[4]) Bockendahl und Landwehr, Virchow's Archiv, Bd. 84, S. 564, 1881.

[5]) Miura, Virchow's Archiv, Bd. 101, S. 316, 1886.

[6]) Ludwig, l. c.

Gerade diese Beobachtungen scheinen sehr dafür zu sprechen, dass vielleicht durch diese zwei Methoden differente peptonartige Körper nachgewiesen werden.

Bei Verwendung für Eiter, Transsudate und Harn ergaben beide Methoden in den Versuchen (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18), welche ich ausführte, übereinstimmende Resultate, und wird insbesondere für Harn die Methode von Devoto wegen ihrer rascheren Ausführbarkeit den Vorzug vor Hofmeister's Vorgehen verdienen und behaupten.

Fasse ich den Inhalt dieser Mittheilung zusammen, so ergibt sich:

1. Das Blut des lebenden Leukämikers verhält sich in Bezug auf das Vorkommen von Pepton different. Es gibt aber Fälle, in denen es sehr reich an Pepton ist.

2. Im Leichenblute des Leukämikers lässt sich mittels der Hofmeister'schen Methode in solchen Fällen viel Pepton nachweisen.

3. Der Peptongehalt des Blutes scheint in solchen Fällen bei der Fäulniss wesentlich zuzunehmen.

4. Milz und Leber des Leukämischen sind mit Pepton überladen, dieses Symptom ist jedoch nicht als ein für die Leukämie charakteristiches anzusehen, da auch in den Organen (Milz) gesunder Menschen grosse Mengen von Pepton auftreten können.

5. Hofmeister's und Devoto's Methode geben bei Verwendung auf Gewebe wesentlich differente Resultate. Die erstgenannte Methode zeigt uns in vielen Fällen Pepton an, in welchen Devoto's Methode kein positives Resultat ergibt.

6. Für die Untersuchung der Exsudate, Transsudate und des Harns geben Hofmeister's und Devoto's Methode übereinstimmende Resultate.

Prag, am 3. December 1891.

Zur Kenntniss des Verhaltens der Gallus- und Gerbsäure im Organismus.

Von

Carl Th. Mörner (Upsala).

(Aus dem Universitäts-Laboratorium, Abth. der med. Fac., in Freiburg i. B.)
(Der Redaction zugegangen am 21. December 1891.)

Bei ihrer neuerlich publicirten, eingehenden Untersuchung: «Ueber das Wesen der Alkaptonurie»[1]) haben sich Wolkow und Baumann der Eigenschaft der Homogentisinsäure, Silbernitrat in ammoniakalischer Lösung zu reduciren, zur quantitativen Bestimmung dieses Stoffes im Harne bedient. Professor Baumann hat mir gütigst vorgeschlagen, zu prüfen, ob dieses Verfahren auch zur quantitativen Schätzung der Gerbsäure (resp. nahe verwandter Stoffe), besonders bei ihrem Vorkommen im Harne, verwendbar sei, um dann, wenn die Sache sich günstig herausstellte, durch angestellte Thierversuche zu erfahren, in welchem Grade die im Organismus eingeführte Säure, event. ihre Zersetzungsproducte, mit dem Harne wieder ausgeschieden werden.

Bis auf Weiteres übergehe ich die in der Litteratur befindlichen, diese Frage berührenden Angaben; ihnen ist indessen gemeinsam, dass sie alle, in Ermangelung einer verwendbaren quantitativen Methode, nur qualitative Verhältnisse behandeln. Aus den früheren Untersuchungen einiger Forscher

---

[1]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XV, S. 228.

geht hervor, dass nach Eingabe von Gerbsäure Gallussäure erscheint. Ich habe es für nützlich erachtet, diese nahe verwandte Säure[1]) in einigen Richtungen zu untersuchen.

I. Versuche über Gallussäure.

Anfänglich wurden die Reactionen, die für qualitative Nachweise später Verwendung fanden, bezüglich ihrer Empfindlichkeit controllirt. Beim Arbeiten mit Harn, dem Gallussäure in verschiedenen Verhältnissen beigemengt war, erwiesen sich eine ammoniakalische Silberlösung und eine (mit Weinsäure bereitete) ammoniakalische Eisenchloridlösung[2]) als besonders empfindliche Reagentien; beide zeigten als niedrigste Grenze noch einen Gehalt des Harns von 0,001 °/₀ Gallussäure an.

Es wurde dann die von Wolkow und Baumann bei Alkaptonharn angewandte Methode einer näheren Prüfung unterworfen und nach dem Beseitigen einiger Fehlerquellen auch für die Bestimmung der Gallussäure im Harne gut verwendbar befunden.

Was die Ausführung betrifft, wurde den von Wolkow und Baumann gegebenen Vorschriften hauptsächlich gefolgt; einige Details mögen doch hier erwähnt werden:

1. Um den Endpunkt zu bestimmen, wurde die von dem reducirten Silber abfiltrirte Flüssigkeit ausschliesslich mit Salzsäure geprüft. Nach einigen zum Orientiren nothwendigen Proben wurde eine Reihe, in welcher eine jede nachfolgende Probe mit je 0,2 cbcm. N./10-Silberlösung mehr versetzt wurde, angestellt. Beim Prüfen der Filtrate ergaben sich dann zwei naheliegende Proben, von denen die eine keine, die andere

---

[1]) Wie bekannt, ist Gallussäure als Trioxybenzoësäure aufzufassen: $C_6H_2(OH)_3COOH$. Durch Zusammentreten von 2 Molekülen Gallussäure mit Austreten einer Moleküle H_2O entsteht die Gerbsäure (Digallussäure): $\left\{\begin{array}{l} C_6H_2(OH)_3CO \\ \quad\quad\quad\quad\quad | \\ C_6H_2(OH)_3\ OCOOH. \end{array}\right.$

[2]) 1 Th. Eisenchloridlös. (20 %) + 1 Th. Weinsäurelös. (20 %) + 4 Th. Ammon (10 %); der gewöhnlichen sauren Eisenchloridlösung vorzuziehen.

eine schwache Trübung erlitt. Als Ausdruck der verbrauchten Menge Silberlösung wurde der Durchschnittswerth der gefundenen Zahlen angesehen, z. B.: $\frac{6,5 + 6,7}{2} = 6,6$ cbcm.

2. In der einzelnen Harnprobe wurden, je nach reichlicherem oder spärlicherem Vorkommen der Säure, 10—50 cbcm. abgemessen. Prüfung der Filtrate erfolgte nach 10 Minuten, welche Einwirkungsdauer Controllversuche als hinreichend erwiesen.

3. In je 10 cbcm. abgemessenen Harns wurde nach Zusatz der Silberlösung 1 cbcm. conc. (oder 3 cbcm. 10procentiges) Ammon hinzugefügt. Aus controllirenden Versuchen ging hervor, dass diese Menge unter allen Verhältnissen hinreichend war und die Endreaction nicht nachtheilig beeinflusst. Wenn man dagegen eine grössere Quantität des Ammons, z. B. 5—10 cbcm. conc. Ammon auf 10 cbcm. Harn, verwendete, hielt der bei Neutralisiren des Filtrats mit Salzsäure entstehende Salmiak eine beträchtliche Menge Chlorsilber in Lösung und die Endreaction wurde unzuverlässig.

4. Der Reductionsprocess wurde in kleinen, mit Stöpseln verschlossenen Flaschen vorgenommen; nach Zusatz der Reagentien wurde die Flüssigkeit durch ein- oder zweimaliges langsames Umdrehen vermischt und dann in Ruhe hingestellt.

Schütteln der Probe, besonders wenn es in offenen Flaschen geschah, verursachte nämlich constant niedrigere und von verschiedener Intensität des Schüttelns abhängige, wechselnde Reductionszahlen, was der Oxydation eines Theiles der Gallussäure durch Luftsauerstoff offenbar zuzuschreiben ist.

5. Eine Correction der gefundenen cbcm.-Anzahl der Silberlösung, in meinen Versuchen 0,3 cbcm. pro 10 cbcm. angewendeten Harns (1,3 cbcm. pro 50 cbcm.) betragend, wurde vorgenommen und sollte bei Arbeiten dieser Art wenn möglich in Betracht kommen.

Diese Correction rührt aus folgendem Ergebnisse her: Bei Vergleichung zweier Gallussäurelösungen desselben Gehaltes, von denen die eine mit Wasser, die andere mit Harn

bereitet war, fiel es auf, dass der Werth der verbrauchten Silberlösung im letzteren Falle stets ein wenig höher war als im ersteren, und die Ursache wurde aufgeklärt, wenn normaler Harn allein mit ammon. Silberlösung versetzt wurde.

Die darin befindliche Harnsäure gab mit einem kleineren Theile der zugesetzten Silberlösung einen in Ammon unlöslichen Niederschlag, der beim Filtriren zurückgehalten wurde.

Um Durchschnittszahlen dieses «Silberverbrauchs» meines normalen Harns zu ermitteln, wurde in vier verschiedenen 24stündigen Harnpartien dieser Silberverbrauch bestimmt und aus den gefundenen Werthen (1,3, 1,2, 1,5, 1,2) als Mittelwerth 1,3 cbcm. pr. 50 cbcm. normalen Harns berechnet, welche Correction bei den folgenden quantitativen Bestimmungen in Berücksichtigung kam.

Das Reductionsvermögen der Gallussäure belief sich auf 30 cbcm. N./10-Silberlösung pr. 0,1 gr. Säure.

Nachdem die Methoden des qualitativen Nachweises und der quantitativen Bestimmung controllirt waren, ging ich zu Stoffwechselversuchen über.

Im Ganzen stellte ich 12 verschiedene Versuche mit Gallussäure an mir selbst[1]) an, deren allgemeine Anordnung aus folgender Erläuterung ersichtlich wird:

Mittags, gewöhnlich nach einer kleinen Mahlzeit, nahm ich eine abgewogene, in Oblatkapseln eingeschlossene Quantität reiner, krystallisirter Gallussäure ein.

Nach 20—28 Stunden, d. h. wenn die qualitative Harnuntersuchung auf Gallussäure ganz negativ ausfiel, wurde die ganze bis dahin entleerte Harnmenge, nachdem sie gemischt und gemessen war, der qualitativen und quantitativen Untersuchung unterworfen.

1. Qualitative Untersuchung.

Schon beim ersten Versuche nach Einnehmen von 2 gr. Gallussäure zeigte es sich, dass dem Harn eine, ammon. Silberlösung reducirende, Substanz beigemengt war. Diese und andere

---

[1]) Körpergewicht 86 Kilogr.

von den Versuchen stammende Harnpartien zeichneten sich durch Folgendes aus:

1. Nach Zusatz einiger Tropfen Ammon oder Lauge nahm der Harn bei Schütteln eine immer dunkler werdende Farbe an.

2. Mit ammon. Silberlösung trat bald Ausscheidung eines grauschwarzen Niederschlages ein.

3. Eisenchloridlösung rief einen graublauen Niederschlag, ammon. (weinsäurehaltige) Eisenchloridlösung eine rothviolette (burgunderähnliche) Färbung, eine Lösung von Ferrosulphat nach kurzer Zeit eine schmutzig blauviolette Farbe hervor.

4. Millon's Reagens (ohne Erwärmung) gab einen schönen, lachsfarbenen Niederschlag in gelbrother Flüssigkeit.

5. Der Harn wurde niemals von Leimlösung getrübt.

Da diese sämmtlichen Reactionen einem mit Gallussäure versetzten Harne zukamen, war die Gegenwart dieser Säure im Versuchsharne schon mit grosser Wahrscheinlichkeit erwiesen und wurde durch folgende Versuche weiter festgestellt:

Mit Schwefelsäure bis 0,1 % angesäuert wurden 2 Liter eines Versuchsharnes mit 1 Liter Aether geschüttelt. Nach Verdunsten des abgehobenen Aethers wurde der Rückstand in Wasser aufgenommen und die durch Aufkochen mit Thierkohle entfärbte Flüssigkeit, die Gallussäurereactionen stark und rein gab, langsam im Wasserbade concentrirt, wobei lange, feine und farblose Krystallnadeln sich abzuscheiden anfingen und nach 24stündigem Aufbewahren im Exsiccator eine reichliche Krystallisation typischer Gallussäurenadeln auftrat. Dass Gallussäure also in den Harn übergeht, wurde hiermit ersichtlich gemacht und die Angaben Jüdell's[1]) und Stockmann's[2]) weiter bestätigt.

Die Frage, ob die Gallussäure als solche oder möglicherweise, wie viele andere Substanzen der aromatischen Gruppe, in Paarung mit Schwefelsäure im Harne auftrete, wurde bei darauf gerichteter Untersuchung zu Gunsten der erstgenannten Möglichkeit entschieden.

---

[1]) Inaug.-Dissert., Göttingen 1869.

[2]) Brit. medic. Journ., 1887, S. 1077.

Etwaige andersartige, aus der eingenommenen Gallussäure stammende Producte waren nicht anzutreffen.

2. Quantitative Untersuchung.

Da es sich bei der qualitativen Prüfung herausstellte, dass man im Versuchsharne mit Gallussäure allein zu rechnen hatte, war die Anwendung der früher erwähnten Methode zur quantitativen Bestimmung der Gallussäure ermöglicht worden.

Tab. I (Mensch).

No.	Eingenommene Gallussäure. gr.	Harnmenge cbcm.	Gallussäuregehalt des Harns. %	Im Harne ausgeschiedene Gallussäure. Absolute Menge. gr.		Relative Menge (% der eingenommenen Gallussäure).	
1.	6	2860	0,062	—	1,78	—	30
2.	4	1970	0,080	1,58	1,30	39	30
3.	4	2030	0,051	1,03		26	
4.	2	1550	0,018	0,28	0,43	14	21
5.	2	1150	0,054	0,62		31	
6.	2	2240	0,017	0,88		19	
7.	1,5	2020	0,003	0,06	0,07	4	5
8.	1,5	1570	0.006	0,09		6	
9.	1	2430	approx. 0,001	approx. 0,002	0,02	2	2
10.	1	2400	» 0,001	» 0.002		2	
11.	0,5	1960	» 0,001	» —	0,02	—	2
12.	0,25	1260	0	—	0	—	0

Aus der hier angeführten Zusammenstellung der Resultate geht unzweideutig hervor, dass, im Ganzen genommen, die im Harne auftretende Gallussäuremenge von der Grösse der eingenommenen Menge ziemlich abhängig ist, so nämlich, dass sie mit steigenden Dosen sowohl absolut als relativ zunimmt. Indession verläuft diese Zunahme nicht in gleichmässiger Progression, sondern bietet einen kritischen Punkt (zwischen 1,5—2 gr. gelegen) dar. Während nämlich von eingenommenen 0,25 gr. nicht eine Spur, von 0,5—1 gr. so äusserst kleine Quantitäten, dass sie Spuren gleichgesetzt werden können, und von 1,5 gr. noch ganz wenig (5 % der eingenommenen

Quantität) im Harne wiederzufinden ist, steigt die eliminirte Menge bei eingenommenen 2 gr. schnell bis auf etwa 20 % hinauf, um dann bei 4—6 gr. etwa 30 % auszumachen.

Niemals fand sich also die ganze, nicht einmal annähernd die ganze Menge der eingenommenen Gallussäure im Harne wieder; ein grösserer oder geringerer Theil war beim Passiren durch den Organismus «verschwunden».

Am nächsten lag die Vermuthung, dass der übrige Theil der Resorption entgangen war und so mit den Excrementen den Körper verlasse. Doch die Untersuchung der Fäces[1]) raubte dieser Annahme ihre Stütze; Gallussäure oder eine ihr verwandte Substanz wurde in den Fäces gar nicht oder höchstens spurenweise angetroffen.

Wenn man weiter in Betracht nimmt, dass, wie schon angeführt, der Harn keine weiteren Umsetzungsproducte der Gallussäure aufzuweisen hatte, ist man berechtigt mit grosser Wahrscheinlickeit zu schliessen, dass der übrige Theil, der im Harne nicht anzutreffen war und welcher in allen Fällen den grösseren Theil darstellte, im Organismus vollständige Verbrennung erlitten hatte.

Mit Gallussäure stellte ich auch einen Hundeversuch an, welcher, wie auch einige später zu erwähnende Versuche, folgenderweise angeordnet wurde: Der Versuchshund (mittelgrosser Rattenhund) verweilte in einem mit Zinkplatten wasserdicht ausgeschlagenen Käfig, dessen schief abfallender Boden es ermöglichte, den Harn in einer mit ein wenig verdünnter Schwefelsäure beschickten Glasflasche aufzusammeln. Es bot sich keine Schwierigkeit dar, die abgewogene und in ein Stückchen Filtrirpapier eingewickelte Dosis des Versuchsmittels (hier 5 gr. Gallussäure) mit zwei Fingern in die Speiseröhre niederzustossen.

Nach 3 Tagen spülte man den Boden des Käfigs mit Wasser ab und der aufgesammelte Harn nebst Spülwasser gelangte zur Untersuchung.

---

[1]) Die Fäces wurden mit warmem, schwefelsäurehaltigem Weingeist digerirt; das Filtrat nach partiellem Verjagen des Weingeistes und Zusatz von Ammon mit ammon. Eisenchlorid- und Silberlösung geprüft.

Mit den früheren Versuchen an Menschen stand dieser Hundeversuch bezüglich der qualitativen Verhältnisse in vollem Einklang; Gallussäure konnte auch hier mit Leichtigkeit in krystallisirter Form erhalten werden. Bei quantitativer Prüfung wurden 1,08 gr. von den eingegebenen 5 gr., d. i. 22% dieser Quantität entsprechend, wiedergefunden.

Versuche mit Gerbsäure.

Wie schon bemerkt, bieten sämmtliche in der Litteratur bisher zu findenden Untersuchungen über das Verhalten der Gerbsäure im Thierorganismus ausschliesslich qualitative Angaben dar, und auch diese gehen ziemlich auseinander, was zum Theil davon abhängen mag, dass sie sich auf verschiedene Thierarten beziehen.

Die erste hierher gehörende Angabe erschien schon im Jahre 1824, worin Wöhler[1]) über das Vorkommen der Gallussäure im Hundeharn, nach Darreichung der Gerbsäure, berichtet. Später (1848) gaben Wöhler und Frerichs[2]) als bei solchen Versuchen im Harne auzufindende Substanzen Gallussäure und Pyrogallussäure an; Gerbsäure hatten sie dagegen nicht gefunden.

Spätere Untersuchungen kommen unten zur Erwähnung.

Bezüglich der allgemeinen Versuchsanordnung ist es hinreichend, auf vorige Abtheilung zu verweisen.

1. Qualitative Prüfung.

Nach Einnehmen einer genügenden Quantität Gerbsäure war Gallussäure sowohl bei Menschen- als Hundeversuche mittels qualitativer Reactionen und der Krystallform mit Bestimmtheit im Harne nachzuweisen. Da weiter Wöhler und Frerichs, Baumann[3]) sammt Stockmann bei Hunde-, Stockmann ausserdem bei Menschen- und Kaninchen-Versuchen übereinstimmend Gallussäure in den Harn übergehend gefunden haben, kann man dieses Verhalten als ein in weiter

---

[1]) Zeitschr. f. Physiologie v. Tiedemann, Bd. I, S. 140.
[2]) Annalen Liebig's, Bd. LXV, S. 335.
[3]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. VI, S. 183.

Ausdehnung geltendes und in vollem Maasse constatirtes Factum betrachten.

Anders steht es mit der Wöhler und Frerichs'schen Angabe, dass Pyrogallussäure auch gebildet werde, welche sie ausschliesslich auf das Verhalten des Harns einem einzigen Reagenz (Eisenoxydulsalz) gegenüber gründen. Wenn auch diese Reaction wirklich einen Unterschied zwischen Gallussäure und Pyrogallussäure darbietet, wäre es doch kaum gestattet, daraus allein auf Pyrogallussäure zu schliessen.

Mir ist es indessen ganz unerklärlich, wie man Eisenoxydulsalz als eine Differentialreagenz dieser beiden Säuren hat aufstellen können (es sollte mit Gallussäure keine, mit Pyrogallussäure eine blaue Färbung geben). Mit Lösungen reiner Gallus- und Pyrogallussäure und bei verschiedener Concentration in Wasser und Harn experimentirend, habe ich in ihrem Verhalten gegen eine frisch bereitete Lösung oxydfreien Ferrosulphats keinen Unterschied bemerkt; in beiden Fällen stellte sich nach kurzer Zeit eine blauviolette Färbung ein.

Da die erste Angabe über das Vorkommen der Pyrogallussäure im Harne allem Anscheine nach aus einer falschen Voraussetzung hervorgegangen ist, da weiter die Möglichkeit ihrer Bildung im Organismus höchst unwahrscheinlich ist, und schliesslich Stockmann, der hierher gehörende qualitative Verhältnisse am eingehendsten studirt hat, weder im Menschen- noch Hundeharn eine Spur von Pyrogallussäure angetroffen hat, habe ich es nicht für nöthig gehalten, dieser Frage eine weitere Aufmerksamkeit zu widmen.

Die Frage, ob Gerbsäure unverändert in Harn übergehen kann, ist von verschiedenen Forschern nicht in derselben Richtung beantwortet worden. In meinen Fällen war weder bei Menschen- noch bei Hundeversuchen (No. 14, 18) eine Spur von Gerbsäure zu entdecken[1]), ein Resultat, das

---

[1]) Die Prüfung wurde folgenderweise ausgeführt: 1 Liter des Harns wurde mit neutr. Bleiacetat bis zu deutlichem Bleigeschmack versetzt. Der ausgewaschene Niederschlag in ein wenig Wasser mit Schwefelwasserstoff vollständig zerlegt. Nach Filtriren wurde die mit Natriumcarbonat neutralisirte Flüssigkeit (100 cbcm. messend; = 10fache Con-

mit dem von Stockmann unter denselben Versuchsbedingungen (Mensch, Hund) erhaltenen übereinstimmt.

Wenn Stockmann dagegen mit Kaninchen experimentirte, fand er, wie auch Lewin[1]), Gerbsäure nebst mehr oder weniger Gallussäure im Harne der Thiere, was nach Darreichung von Gerbsäure in neutraler Verbindung, als Alkalitannat, auch für Hunde galt.

Es ist somit ganz unzweifelhaft, dass diese Frage nicht eine allgemein giltige Antwort erhalten kann, indem sowohl die Art der Versuchsthiere, als die Form, in welcher Gerbsäure dargereicht wird, das Resultat beeinflussen.

2. Quantitative Untersuchung.

Die Menge der Gallussäure im Harne wurde nach der früher erwähnten Methode bestimmt.

Tab. II.

a) Mensch.

No.	Eingenommene Gerbsäure. gr.	Harnmenge. cbcm.	Gallussäuregehalt des Harns. %	Im Harne ausgeschiedene Gallussäure. Absolute Menge. gr.	Im Harne ausgeschiedene Gallussäure. Relative Menge (% der eingenommenen Gallussäure).
14	8	1800	0,006	0,11	1
15	4	1870	0	0	0
16	4[2])	2360	0	0	0
17	2	1350	0	0	0
b) Hund.					
18	10	1000	0,005	0,05	0,5
19	5	1000	0,005	0,05	1

Anfänglich wurden 2 gr. Gerbsäure eingenommen, ohne dass weder in der 24stündigen Harnpartie im Ganzen, noch

centration) theils direct, theils nach langsamem Concentriren am Wasserbade bis $^1/_5$ (50 cbcm. bis 100 cbcm.; d. h. eine 50fache Concentration der im ursprünglichen Harne möglicherweise vorhandenen Gerbsäure) mit Leimlösung unter geeigneten Vorsichtsmassregeln geprüft. Das Resultat war entschieden negativ.

[1]) Virchow's Archiv, Bd. 81 (1880), S. 74.

[2]) In Klystier.

in einzelnen geprüften Portionen auch eine Spur von Gallussäure aufzufinden war.

Keinen wesentlichen Unterschied boten die zwei folgenden Versuche (4 gr.) dar. In beiden Fällen freilich war in einer kleinen, ungefähr 2 Stunden nach Einnehmen gelassenen Portion eine Andeutung zur Gallussäurereaction mit ammoniakalischer Eisenchloridlösung wahrzunehmen, die indessen in den folgenden Portionen oder in der ganzen 24stündigen Harnpartie nicht zu entdecken war. Auch in diesen Versuchen konnte man also den Gehalt des Harns an Gallussäure gleich Null setzen.

Erst nachdem die eingenommene Gerbsäuremenge bis auf 8 gr. gestiegen war, trat Gallussäure in erwähnenswerther Quantität im Harne auf.

Sowohl bei diesem an mir selbst angestellten Versuche (No. 14), als bei den zwei Hundeversuchen (No. 18, 19) fällt es auf, welcher unbedeutende Bruchtheil der eingenommenen Gerbsäure, 0,5—1 % derselben, in den Harn als Gallussäure übergetreten ist.

Hier noch mehr, als bei den früher erwähnten Gallussäureexperimenten, lag die Möglichkeit am nächsten, dass die Gerbsäure mit im Magen und Dünndarm befindlichen Eiweissstoffen unresorbirbare Verbindungen eingegangen war und dann mit den Fäces ausgeführt wurde. Dieses angenommen, sollte die Resorption mehr unbehindert vorgehen und die Ausscheidung durch den Harn erheblicher sein, wenn die Gerbsäure im leeren Mastdarm applicirt wurde.

Ein Versuch dieser Art kam zur Ausführung; 4 gr. Gerbsäure nahm ich als Klystier zu mir. Doch eben so wenig wie wenn 4 gr. per os eingenommen waren, fand sich hier Gallussäure in nachweisbarer Menge im Harne wieder.

Um die Frage weiter fortzuführen, wurden die Excremente von den Versuchen No. 14 und 15 + 17 in der früher anangegebenen Weise (S. 261) untersucht. Gerbsäure oder Gallussäure waren aber in den Excrementen nicht vorhanden, und damit die Annahme, dass die Gerbsäure auf diesem Wege den Körper verlasse, als unrichtig erwiesen.

Aus den bisher hervorgehobenen Befunden geht mit grosser Wahrscheinlichkeit hervor, dass die Gerbsäure nach ihrer Resorption zum allergrössten Theile einer vollständigen Verbrennung unterworfen war.

Wenn wir weiter die Versuche (sowohl Menschen- wie Thierversuche), welche hinsichtlich der Grösse der eingegebenen Dosen einander gleichkommen, zusammenstellen, ergibt sich ein deutlich ausgesprochener Unterschied in dem Verhalten der Gallussäure und Gerbsäure, wenn sie im Organismus eingeführt sind.

Es mag hier nur daran erinnert werden, dass es nach der Theorie kein Hinderniss für die Annahme gibt, dass sich eine gewisse Quantität (z. B. 1 gr.) Gerbsäure im Organismus in eine annähernd gleich grosse Quantität (1,05 gr.) Gallussäure umwandeln kann; da weiter sowohl Gallussäure als Gerbsäure, wie schon besprochen ist, thatsächlich als Gallussäure in den Harn übertreten, liegt die aprioristische Annahme, dass dieselbe Quantität der beiden Säuren, wenn in den Körper eingeführt, eine in beiden Fällen annähernd gleich grosse Gallussäurequantität im Harne erscheinen lassen sollte[1]), ziemlieh nahe.

Mit den thatsächlichen Verhältnissen stimmt indessen diese Annahme bei Weitem nicht überein, worüber Tab. III nähere Auskunft ertheilt.

Tab. III.

a) Mensch.

No. der Versuche.	Eingenommene Menge. gr.	Im Harne ausgeschiedene Gallussäure.			
		Absolute Menge (gr.).		Relative Menge (%).	
		Bei Gallussäureeingabe.	Bei Gerbsäureeingabe.	Bei Gallussäureeingabe.	Bei Gerbsäureeingabe.
4, 5, 6, 17	2,43	0,43	0	21	0
2, 3, 15, 16	1,40	1,30	0	32	0
1, 14	6,78	1,78	0,11	30	1
b) Hund.					
13, 19	5	1,08	0,05	22	1

[1]) Wenn man z. B. nach Eingabe von 5 gr. Gallussäure 1 gr. im Harne wieder gefunden hatte, wäre nach eingegebenen 5 gr. Gerbsäure ebenfalls annähernd 1 gr. Gallussäure zu erwarten.

Indem Gallussäure bei Eingaben von 2 gr. mit etwa 20 %, von 4 gr. mit etwa 30 % im Harne erscheint, liefert Gerbsäure, in denselben ansehnlichen Dosen genommen, keine nachweisbare Menge und bei Dosen von 6—8 gr. doch nur eine kleine, 1 % der eingenommenen Dosis, entsprechende Gallussäuremenge, gegen etwa 30 % bei denselben Dosen der Gallussäure.

Mit dem blossen Constatiren dies bemerkenswerthen Factums muss ich mich hier begnügen, die Erklärung desselben dagegen hingestellt sein lassen.

Indessen mag es gestattet sein, die Möglichkeit einer Erklärung, welcher die grösste Wahrscheinlichkeit zuzukommen scheint, hervorzuheben.

In den Magen und oberen Theil des Dünndarms gelangend, geht die Gerbsäure mit Eiweissstoffen schwer lösliche Verbindungen ein, aus denen sie, weiter in den Darm heruntergerückt, bei dort herrschender alkalischer Reaction allmälig freigelassen wird.

Also allmälig zur Resorption gelangend, tritt sie (ob als Gerbsäure oder schon in Gallussäure umgewandelt, steht dahin) nur in kleiner Menge und während einer längeren Zeitdauer in das Blut über, was ihre relative vollständige Verbrennung begünstigen muss.

Mit der Gallussäure steht es anders. Da sie keine Neigung besitzt, schwer lösliche Verbindungen einzugehen, unterliegt sie einer schnellen Resorption, tritt in das Blut in bedeutenderer Menge auf, so dass einem relativ grösseren Theile (vor Verbrennung geschützt) Gelegenheit gegeben wird, durch die Nieren ausgeschieden zu werden.

Zum Schluss möchte es mir gestattet sein, Herrn Professor Dr. Baumann für die freundlichste Aufnahme in sein Laboratorium meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Ueber die Bestimmung der Homogentisinsäure im Alkaptonharn.

Von

E. Baumann.

(Der Redaction zugegangen am 21. December 1891.)

Vor einiger Zeit habe ich in Gemeinschaft mit M. Wolkow eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Homogentisinsäure beschrieben[1]), zu welcher einige nachträgliche Bemerkungen zu machen die sorgfältigen Beobachtungen von Carl Th. Mörner (s. vorstehende Publication) mir Veranlassung geben. Die genannte Methode beruht auf der Ermittelung der Reduction einer ammoniakalischen Silberlösung von bekanntem Gehalt durch die Homogentisinsäure. Damit nach Beendigung der Reduction sofort beim Filtriren eine klare Lösung erhalten wird, ruft man in der vom fein vertheilten Silber getrübten Flüssigkeit einen Niederschlag von Calciumcarbonat (durch Zusatz einiger Tropfen von Chlorcalcium und Ammoniumcarbonat) hervor.

Bei der Beschreibung der Methode ist in Folge eines Versehens von mir die Anwendung von concentrirtem an Stelle von verdünntem Ammoniak vorgeschrieben worden. Thatsächlich ist bei den Bestimmungen von Wolkow und mir immer verdünntes Ammoniak, dessen Gehalt zwischen 8 und 10 % schwanken konnte, gebraucht worden. Dass dieses der Fall war, wird durch die folgenden Angaben bewiesen (l. c., S. 261), wo darauf aufmerksam gemacht wird, dass statt 10 cbcm. Ammoniak 20 cbcm. zu nehmen seien, sobald bei der Bestimmung mehr als 10 cbcm. $^1/_{10}$-N.-Silberlösung verbraucht worden seien. Wenn wirklich concentrirtes Ammoniak angewendet worden wäre, so hätte sich eine Veranlassung, die Ammoniakmenge zu vermehren, nicht schon bei einem Verbrauch von 10 cbcm., sondern erst nach Zusatz von 40 bis 50 cbcm. der Silberlösung ergeben können. Dieser

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 259.

Punkt ist daher zu berichtigen. Bei Gegenwart einer grösseren Menge von Ammoniak wird die Endreaction — in Folge der Löslichkeit des Chlorsilbers in einer concentrirten Salmiaklösung — etwas unsicher, wie Carl Th. Mörner bei der Bestimmung der Gallussäure (s. vorstehende Mittheilung) gezeigt hat.

Neuere Versuche, welche Herr cand. med. Embden bei einem neuen Falle von Alkaptonurie angestellt hat, ergaben, dass man bei der Bestimmung der Homogentisinsäure mit der Concentration des Ammoniaks (bei Anwendung gleicher Volumina von Harn und verdünntem Ammoniak) bis auf 2,5 bis 3% heruntergehen kann. Diese Grenze darf aber nicht wesentlich unterschritten werden, sonst tritt die Reduction zu langsam ein.

C. Th. Mörner hat bei den Bestimmungen der Gallussäure nach der von Wolkow und mir angegebenen Methode die Wahrnehmung gemacht, dass die Endreaction am deutlichsten zu erkennen ist, wenn man das Filtrat vom abgeschiedenen Silber nicht auf noch vorhandene reducirende Substanz (mit Silberlösung), sondern nur auf den Ueberschuss von Silber in dem Filtrat (durch Salzsäure) prüft. Dass diese beiden Proben bei der Ermittelung der Endreaction nicht durchaus gleichwerthig sind, haben Wolkow und ich gleichfalls beobachtet, ohne dieses Umstandes besonders zu erwähnen, weil man ihn bei der Ausführung des Versuches alsbald bemerkt.

C. Th. Mörner hat bei den Bestimmungen der Gallussäure im Harn eine Correction wegen der durch die Harnsäure bedingten Reduction der Silberlösung eingeführt, welche nach seinen Controlversuchen für 10 cbcm. bei normalem Harn 0,3 cbcm. der $^1/_{10}$-N.-Silberlösung ausmacht. Es liegt nahe, eine solche Correction auch für den Alkaptonharn in Betracht zu ziehen. Dagegen ist aber zu bemerken, dass sowohl der von Wolkow und mir, als der neuerdings von Embden untersuchte Alkaptonharn, so minimale Mengen von Harnsäure enthielt, dass diese Correction in diesen Fällen nicht angebracht erscheint[1]).

[1]) Herr Embden wird über seine an einer zweiten Person gemachten Beobachtungen über die Homogentisinsäureausscheidung bei Alkaptonurie demnächst eingehend berichten.

Mit Berücksichtigung der vorstehenden Ausführungen lautet nunmehr die Vorschrift zur Bestimmung der Homogentisinsäure im Harn folgendermassen:

10 cbcm. des Alkaptonharns werden in einem Kölbchen mit 10 cbcm. Ammoniak von 3 % versetzt. Zu dieser Mischung lässt man unverzüglich einige cbcm. $^1/_{10}$-N.-Silberlösung hinzufliessen, schüttelt einmal um und lässt 5 Minuten stehen. Alsdann werden der Mischung 5 Tropfen Chlorcalciumlösung (1 : 10) und 10 Tropfen Ammoniumcarbonat hinzugefügt. Nach dem Umschütteln wird filtrirt. Das bräunlich gefärbte, aber immer ganz klare Filtrat wird mit Silbernitrat geprüft; tritt dabei sofort wieder eine starke Abscheidung von Silber ein, so wird bei dem zweiten Versuch gleich eine grössere Menge (das Doppelte bis Dreifache) $^1/_{10}$-N.-Silberlösung zu der Mischung von 10 cbcm. Harn und 10 cbcm. Ammoniak hinzugesetzt. Kennt man schon annähernd die zur Oxydation erforderliche Menge der Silberlösung, so bedient man sich — in Uebereinstimmung mit Mörner's Erfahrungen bei der Bestimmung der Gallussäure —, um die Endreaction zu erkennen, nur noch der Prüfung mit Salzsäure. Die Endreaction ist erreicht, wenn das Filtrat vom Silberniederschlag beim Ansäuern mit verdünnter Salzsäure eine eben noch sichtbare Trübung von Chlorsilber liefert. Man findet diesen Punkt sehr scharf durch 4- bis 5- oder 6malige Wiederholung des Versuches. Sind mehr als 8 cbcm. $^1/_{10}$-N.-Silberlösung auf 10 cbcm. Harn + 10 cbcm. Ammoniak erforderlich, so sind bei der Wiederholung des Versuches 20 cbcm. (statt 10 cbcm.) Ammoniak zu verwenden.

Nach den früher ausgeführten Bestimmungen von reiner Homogentisinsäure (in Wasser oder in Harn gelöst) reducirt 1 gr. wasserfreier Homogentisinsäure unter den angegebenen Bedingungen eine Quantität Silberlösung, welche 2,60 bis 2,65 gr. Silber enthält, d. h. 240 bis 245 cbcm. der $^1/_{10}$-N.-Silberlösung. Danach werden durch 1 cbcm. $^1/_{10}$-N.-Silberlösung 0,004124 gr. Homogentisinsäure angezeigt.

Freiburg i. B., Universitätslaboratorium.

Die Reactionen der ungeformten Fermente.

Von

G. Tammann.

(Der Redaction zugegangen am 25. December 1891.)

Vor 3 Jahren behandelte ich die Reactionen ungeformter Fermente vom Standpunkte der Affinitätslehre und gelangte zu Resultaten, die von denen, die man für andere Reactionen erlangt hatte, sehr bedeutend abwichen. Es konnte schon damals gezeigt werden, dass die Reactionen ungeformter Fermente eine Gruppe bilden, die sich sehr wesentlich von allen anderen Reactionen unterscheiden.

Dieser Versuch des Verfassers scheint von den Physiologen nicht bemerkt zu sein. Es schien daher geboten, die seit jener Zeit bedeutend erweiterten Resultate in einem Fachjournal für physiologische Chemie zu publiciren.

Die Fermentreactionen unterscheiden sich wesentlich von allen anderen Reactionen. Sie sind unvollständig, d. h. nicht die ganze Masse des der Wirkung unterliegenden Stoffes wird verändert, sondern ein Theil desselben entzieht sich der Veränderung, weil während der Reaction das Ferment sich in eine unwirksame Modification verwandelt. Diese unwirksame Modification ist aber noch wirkungsfähig, mit anderen Worten, sie kann sich, sobald die für ihren Bestand nothwendigen Bedingungen verändert werden, wieder in die wirkungsfähige Modification umwandeln. Bei höheren Temperaturen kommt noch eine zweite Reaction, der das Ferment unterliegt, hinzu. Das Ferment spaltet sich in merklicher Weise gewöhnlich schon bei Temperaturen über 50° C., indem es in mehrere Spaltungsproducte, aus denen es sich nicht wieder zurückbilden kann, zerfällt.

Es ist, bevor wir auf unser Thema näher eingehen, zwei Einwänden zu begegnen: Da die ungeformten Fermente noch nie unzweifelhaft rein dargestellt sind, so kann man ihre Masse, die doch bei quantitativen Untersuchungen in Betracht kommt, nicht feststellen. Darauf wäre zu antworten: die exacten Wissenschaften brauchen nicht immer mit absolutem Maass zu messen, spätere Reductionen des in relativem Maass gemessenen auf absolutes Maass werden häufig vorgenommen. Für unseren Fall bedeutet das nichts Anderes, als dass die Darstellungsweise eines Ferments genau angegeben werden muss, damit späterhin, wenn man den Procentgehalt des betreffenden Präparats am Ferment erfährt, die Reduction möglich ist.

Ferner könnte man noch folgenden Einwand erheben: Da alle Fermentepräparate vermuthlich Verunreinigungen enthalten, so können diese den Verlauf der Fermentreactionen wesentlich beeinflussen. Nach dem, was aber über die Beeinflussung des Verlaufes oder der Endzustände der Fermentreactionen durch fremde Stoffe bekannt geworden ist, dürfte dieselbe innerhalb der hier in Betracht kommenden Grenzen der Concentration der veruneinigenden Stoffe nur sehr gering sein.

Katalytische und Ferment-Hydrolysen.

Viele Stoffe haben die Eigenschaft, in wässeriger Lösung unter Aufnahme von Wasser zu zerfallen. Man bezeichnet diesen Vorgang als Hydrolyse. Häufig vollzieht sich die Hydrolyse bei Temperaturen unter dem Siedepunkt des Wassers mit ausserordentlich geringer Geschwindigkeit, so dass man die Reaction kaum oder überhaupt nicht wahrnehmen kann. Diese Langsamkeit der Reaction darf uns aber nicht verleiten, dieselbe überhaupt zu leugnen, da durch Berthelot und van t'Hoff bekannt ist, dass der Einfluss der Temperatur auf die Reactionsgeschwindigkeit ein ganz enormer ist. Die Hydrolyse, die häufig bei niederen Temperaturen nur durch die feinsten Hilfsmittel der Analyse nachgewiesen werden werden könnte, wird durch Zusatz von Säuren in allen Fällen ausserordentlich beschleunigt. In einzelnen speciellen Fällen wird die Hydrolyse durch Substanzen, die man unter der

Bezeichnung: ungeformte Fermente (Enzyme) zusammenfasst, in überraschender Weise beschleunigt.

Bevor wir näher auf die Beschleunigung der Hydrolyse durch Säuren und ungeformte Fermente eingehen, mögen einige Thatsachen, die die Zugehörigkeit der Fermentreactionen zu den hydrolytischen Reactionen ausser Frage stellen, mitgetheilt werden. Alle Fermentreactionen vollziehen sich nur in wässeriger Lösung. Die der Wirkung unterliegende Substanz nimmt bei ihrem Zerfall Wasser auf. Ueberblickt man das Verzeichniss der Reactionen ungeformter Fermente von Hoppe-Seyler[1]), so findet man zwei Reactionen, die auf den ersten Blick als Ausnahmen von dieser Regel aufgefasst werden könnten. Dieselben sind die des myronsauren Kalis und des Sinalbins. Bei der Spaltung des myronsauren Kalis bildet sich saures schwefelsaures Kali; dieses aber darf kaum als primäres Product der Spaltung betrachtet werden, sondern dasselbe hat sich wohl aus Schwefelsäure und Kali gebildet. Sind aber die beiden letzteren primäre Spaltungsproducte, so ist bei der Spaltung des myronsauren Kalis Wasser aufgenommen worden. Aehnlich dürfte sich wohl auch die scheinbare Ausnahme beim Sinalbin erklären.

Auch für Reactionen, deren Chemismus noch nicht genügend erkannt worden ist, ist man berechtigt, eine Wasseraufnahme bei der Reaction anzunehmen. Folgendes, methodisch besonders lehrreiche Beispiel verdanke ich einer mündlichen Mittheilung Herrn Prof. Dr. Alexander Schmidt's: Theilt man Pferdeblutplasma in zwei gleiche Portionen, von welchen die eine als solche, ohne dass Gerinnung eintritt, bis zum constanten Gewicht getrocknet wird, die andere aber nach stattgefundener Gerinnung in derselben Weise ihres ungebundenen Wassers befreit wird, so ergibt die zweite Portion eine Gewichtszunahme von etwa $^1/_2$ %. Die Fermentreactionen gehen also ausnahmslos unter Aufnahme von Wasser vor sich.

Auch das zweite Merkmal hydrolytischer Reactionen kommt den Fermentreactionen zu. Nach den Versuchen von Munk[2])

---

[1]) Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, S. 116—126, 1877.

[2]) J. Munk, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 1, S. 395, 1877.

erleiden die Stoffe, die durch ungeformte Fermente gespalten werden, dieselben Veränderungen schon in wässeriger Lösung. Nach J. Munk zerfällt eine Salicinlösung, auf 150—160° 5 Stunden lang erhitzt, in Saligenin und Zucker; ein Theil des Saligenins geht dabei in Saliterin über. Amygdalin zerfiel unter denselben Umständen in Benzaldehyd und Zucker; Blausäure konnte nicht nachgewiesen werden, wohl aber Ameisensäure und Ammoniak; doch auch diese Umsetzungsproducte des Nitrils der Ameisensäure fanden sich weniger als zu erwarten war, so dass die im ersten Moment entstehende Blausäure einer noch unbekannten Umsetzung unterliegt. Hippursäure, in wässeriger Lösung bei 170—180°, zerfällt in Benzoesäure und Glycocoll. Munk führt noch eine Reihe von Spaltungen anderer Stoffe, Kohlenhydrate und Eiweissstoffe an, die alle bei 150° in wässerigen Lösungen in Stoffe zerfallen, die oder denen ähnliche sich auch unter dem Einfluss von Fermenten bilden. Natürlich ist eine vollständige Identität der Spaltungsproducte, die beim Erhitzen der wässerigen Lösung eines Stoffes entstehen, und der, die durch ungeformte Fermente entstehen, nicht in allen Fällen zu erwarten. Zerfällt ein Molekül in mehrere Atomcomplexe, so sind diese im Zeitraum von ihrer Entstehung an bis zur Bildung der Moleküle der Umsetzungsproducte fremden Einflüssen besonders zugänglich. Das quantitative Verhältniss der gebildeten Reactionsproducte kann mit der Temperatur, bei der die Reaction vor sich geht, wechseln, aber auch qualitativ von einander verschiedene Umwandlungsproducte können bei verschiedenen Temperaturen auftreten.

Es ist wiederholt darauf hingewiesen worden, dass verdünnte Säuren und geformte Fermente dieselben Reactionen unter Aufnahme von Wasser hervorzurufen im Stande sind[1]. Diese hydrolytische Wirkung der Säuren ist sehr viel allgemeiner, als die der Fermente. Während jede beliebige Säure im Stande ist, jede beliebige hydrolytische Reaction hervorzurufen, vermag ein ungeformtes Ferment immer nur

[1]) Nencki, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 17, S. 105, 1879; Hoppe-Seyler, Pflüger's Archiv, Bd. 12, S. 1, 1876.

einen oder einige wenige bestimmte Stoffe in merklicher Weise zu spalten. Es verhalten sich betreffs ihrer Reactionsfähigkeit die Fermente zu den Säuren wie Special- zu Gruppenreagentien. Da, falls eine Säure eine hydrolytische Reaction stark zu beschleunigen vermag, alle anderen Säuren dasselbe zu leisten im Stande sind, so muss, nach Arrhenius[1]), das allen Säuren gemeinsame Wasserstoffjon als die, die Hydrolyse bedingende, Ursache betrachtet werden. Da auch das Wasser wohl nicht absoluter Nichtleiter der Electricität ist, so nimmt Arrhenius im reinen Wasser eine sehr geringe Menge von Wasserstoffjonen an. Betrachtet man diese Wasserstoffjonen als Ursache der Hydrolyse in wässeriger Lösung, so ist die Beschleunigung der Hydrolyse durch Zusatz von Säuren leicht verständlich. Die Beschleunigung der Hydrolyse durch Zusatz von Ferment kann ihre Ursache nicht in der Vermehrung von Wasserstoffjonen durch Zusatz von Ferment haben, denn die Fermente sind zweifellos Nichtelectrolyte. Diese Ursache kann nur in der Affinität gewisser Atomcomplexe im Fermentmolekül zu gewissen, aber für's Erste nicht näher zu bestimmenden Complexen in dem der Spaltung unterliegenden Molekül zu suchen sein. Die Thatsache, dass sich betreffs ihrer Reactionsfähigkeit die Fermente zu den Säuren wie Special- zu Gruppenreagentien verhalten, ist vom Standpunkte der entwickelten Anschauungen verständlich.

Entgegen der allgemeinen Wirkungsfähigkeit der Säuren kann ein Zusatz irgend eines anderen Stoffes beschleunigend auf die Hydrolyse nur dann wirken, wenn zufällig zwischen zwei Atomcomplexen der beiden Stoffe eine wirksame Affinität existirt. In den ungeformten Fermenten haben wir solche Beschleuniger zu erblicken, doch existiren wohl zweifellos noch manche andere Stoffe, die nicht Säuren sind und doch in auffallender Weise die Hydrolyse beschleunigen. Ganz ohne beschleunigende oder verzögernde Wirkung auf eine sich vollziehende Hydrolyse dürfte wohl überhaupt kein einziger Stoff sein, eine sehr grosse Beschleunigung üben aber, wie jetzt bekannt, nur die Säuren und ungeformte Fermente aus.

[1]) S. Arrhenius, Zeitschr. f. physikalische Chem., Bd. 4, S. 226, 1889.

Liebig[1]) erwähnt, dass sich durch Zusatz von sehr geringen Mengen Aldehyd zu Lösungen von Cyan in Wasser schnell Oxamid bildet. Nach Schmitt und Glutz[2]) geht dieselbe Reaction unter Einfluss von Salzsäure vor sich. Leider bietet die quantitative Verfolgung dieser interessanten Reaction bedeutende Schwierigkeiten. Auch treten nach einiger Zeit in den Cyanlösungen andere complicirte Reactionen ein. Eine Cyanlösung färbt sich bei gewöhnlicher Temperatur bald braun. Ein Zusatz von Aldehyd verzögert proportional seiner Menge den Eintritt der Braufärbung.

Die durch Fermente hervorgerufenen Reactionen sind unvollständig.

Bei allen bisher näher untersuchten Reactionen wird entweder die ganze vorhandene Menge des der Reaction unterliegenden Stoffes verändert, oder es zerfällt nur ein Theil des Stoffes; in diesem Falle tritt immer ein Gleichgewicht zwischen zwei Reactionen, die entgegengesetzte Veränderungen bewirken, ein. So wird beim Zerfall eines Esters in wässeriger Lösung Alkohol und Säure gebildet, andererseits verbinden sich Alkohol und Säure wiederum zu Ester. Es muss also diese Reaction zu einem Gleichgewichtszustand führen, der dadurch bedingt ist, dass die Geschwindigkeit der Esterbildung und die Geschwindigkeit der Esterspaltung unter den Bedingungen des Gleichgewichts einander gleich sind.

Wir werden sehen, dass die von ungeformten Fermenten veranlassten Reactionen in der That nicht vollständig sind. Es liegt also nahe, aus dieser Thatsache nach allen bisherigen Erfahrungen der Affinitätslehre den Schluss zu ziehen, dass die Fermentreactionen zu Gleichgewichtszuständen führen. Zieht man die Consequenzen dieser Folgerung, so kommt man zu sehr folgereichen Ergebnissen: nämlich, dass es möglich sein muss, wenn die Fermentreactionen zu Gleichgewichtszuständen führen, aus den Spaltungsproducten unter Zusatz von Ferment den ursprünglichen Stoff zu regeneriren. Diese

[1]) J. v. Liebig, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 1, S. 41, 1870.

[2]) Schmitt u. Glutz, Berl. Ber., 1, S. 66, 1868.

Consequenz bietet verlockende Perspectiven, wie die Darstellung von Rohrzucker aus Invertzucker etc., so dass die Prüfung derselben durch das Experiment unbedingt geboten erscheint.

Bevor wir uns aber mit der Frage beschäftigen: tritt bei Fermentreactionen ein Gleichgewichtszustand ein, oder bilden dieselben eine besondere Classe von Reactionen, die weder vollständig verlaufen, noch zu Gleichgewichtszuständen führen? muss zuerst die Thatsache, dass die Fermentreactionen unvollständig sind, sicher gestellt werden. Ueber diesen Punkt finden sich in der sehr umfangreichen Litteratur des Gegenstandes mannigfache, zum Theil einander widersprechende Angaben. Für einige Reactionen steht die Unvollständigkeit der Reactionen durch Angaben vorzüglicher Beobachter fest, für andere finden sich widersprechende Angaben, und für manche fehlen, trotzdem dieselben mehrfach untersucht wurden, über diesen Punkt jegliche Angaben. Gewöhnlich begnügen sich die Autoren, die Spaltung durch Fermente qualitativ nachzuweisen. Den Satz, dass alle Fermentreactionen durch ihre Unvollständigkeit charakterisirt sind, habe ich in seiner Allgemeinheit nirgends ausgesprochen gefunden.

Die Affinitätslehre theilt die Reactionen, je nach den verschiedenen Aggregatszuständen der reagirenden Stoffe, in verschiedene Gruppen ein. Diese Systematik wird auch in unseren Fällen nützlich sein. Wir werden homogene von heterogenen Systemen unterscheiden. Als Fermentreactionen in homogenen Systemen werden solche bezeichnet werden, bei denen am Anfang und am Ende der Reaction der der Spaltung unterliegende Stoff und die Spaltungsproducte in Lösung sind. Ferner werden wir zwei Arten der Heterogenität unserer Systeme zu unterscheiden haben: a) Das System ist bei Beginn der Reaction heterogen; das Ferment wirkt auf einen unlöslichen Stoff und spaltet diesen in lösliche Spaltungsproducte. b) Das System ist bei Beginn der Reaction homogen, wird aber im Verlauf der Reaction heterogen; das Ferment spaltet einen gelösten Stoff in Spaltungsproducte, die theils gelöst, theils sich als Gase oder Niederschläge aus der Flüssig-

keit abscheiden. Aus Gründen, die erst im folgenden Abschnitt auseinander gesetzt werden, sind hier unter homogenen Systemen auch solche angeführt worden, die gegen Ende der Reaction heterogen werden können.

Homogene Systeme.

Liebig und Wöhler[1]) constatirten, dass Emulsin Amygdalin nur unvollständig spaltet. Sie sind der Ansicht, dass die Spaltung von Amygdalin nur so weit geht, als das gebildete Benzaldehyd in Wasser gelöst bleibt. Sie sagen: «So scheint die Auflöslichkeit des Oeles (Benzaldehyd) in der Flüssigkeit, worin die Zersetzung vor sich geht, die Grenze der Zersetzung des Amygdalins zu bedingen. Wenn aber weniger Wasser vorhanden ist, als das sich abscheidende Oel zu seiner Auflösung bedarf, so bleibt Amygdalin unzersetzt.» Diese Erklärung für das Unvollständigbleiben der Reaction von Emulsin auf Amygdalin lässt sich in keiner Weise halten. Es ist kein Grund vorhanden, dass zufällige Löslichkeitsverhältnisse, die ganz unahhängig von der Reaction sind, diese in jenem Sinne beeinflussen. Wenn ein Reactionsgemisch während der Reaction inhomogen wird, so geht die Reaction trotzdem doch zu Ende. Man erinnere sich nur der Spaltung von Chloral durch Natronlauge in Chloroform und Ameisensäure.

Jene Ansicht ist übrigens leicht zu widerlegen. Schüttelt man eine verdünnte Emulsinlösung mit einem Ueberschuss von Benzaldehyd, so wird zwar ein Theil des Emulsins gefällt, doch die mit Benzaldehyd gesättigte Fermentlösung vermag noch erhebliche Mengen von zugesetztem Amygdalin zu zerlegen.

Für die Wirkung des Emulsins auf Salicin gibt Piria an, dass dieselbe vollständig ist. Ich[2]) habe schon früher gezeigt, dass die Angabe von Piria nicht richtig ist.

Tiemann und Haarmann[3]) geben betreffs der Spaltung von Coniferin durch Emulsin an, dass nach Extraction

---

[1]) Liebig u. Wöhler, Ann. d. Pharm. u. Chem., Bd. 22, S. 19, 1837.
[2]) Tammann, Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. III, S. 27, 1889.
[3]) Tiemann u. Haarmann, Berl. Berichte, 1874, S. 612.

des Coniferylalkohols aus dem Reactionsgemisch mit Aether in der restirenden Lösung von Traubenzucker und Emulsin sich eventuell noch Spuren von unzersetztem Coniferin befinden. Den Verfassern kam es darauf an, so viel als möglich Coniferylalkohol zu gewinnen, und man kann nicht leugnen, dass sie durch Entfernung des einen Spaltungsproductes, durch Ausschütteln des Coniferylalkohols mit Aether, ihren Zweck fast vollständig erreicht haben. Ueber den Endzustand der Reaction sagen aber diese Versuche wenig aus, da derselbe absichtlich durch Zusatz von Aether gestört wurde. Die Reaction ist, wie später gezeigt wird, unvollständig.

Ebenso spricht die Angabe von Tiemann und Reimer[1]), dass Zuckervanillinsäure durch Emulsin «gerade auf in Traubenzucker und Vanillinsäure gespalten wird» und dass die Spaltung «qualitativ verläuft», nicht gegen die Ansicht, dass auch diese Reaction unter normalen Bedingungen unvollständig ist, denn die Verfasser extrahiren aus dem Reactionsgemisch, in dem noch wirksames Emulsin vorhanden war, die Vanillinsäure mit Aether.

Ueber die Spaltung des Aesculins durch Emulsin in Aesculetin und Traubenzucker wissen wir aus den Angaben von Rochleder und Schwarz[2]), dass, trotzdem im Endzustande der Reaction der grösste Theil des Aesculetins sich aus dem Reactionsgemisch ausgeschieden hat, nur 70,4 % des angewendeten Aesculins als Traubenzucker gefunden wurden, während, wenn die Spaltung vollständig gewesen wäre, 74,7 % Zucker sich gebildet hätten. Es muss also im Endzustande der Reaction noch unzersetztes Aesculin vorhanden sein.

Von der Spaltung des Daphnins gibt Zwenger[3]) an, dass dieselbe durch Emulsin bewirkt wird, ob sie vollständig oder unvollständig verläuft, hat er nicht weiter untersucht.

---

[1]) Tiemann u. Reimer, Berl. Berichte, 1875, S. 516.

[2]) Rochleder u. Schwarz, Liebig's Ann., Bd. 88, S. 356, 1853, und Wien. Acad. Ber., Bd. XI, S. 334.

[3]) Zwenger, Liebig's Ann., Bd. 115, S. 9, 1860.

Dasselbe gilt von den Angaben Will's und Körner's[1]) betreffs der Reaction von Myrosin auf myronsaures Kali. Auch diese Reaction ist unvollständig.

Von der Reaction des Invertins auf Rohrzucker hat Barth[2]) gezeigt, dass dieselbe für eine nicht näher bestimmte Temperatur unvollständig ist. 5 gr. Rohrzucker ergaben unter dem Einfluss von 5 mgr. Invertin nicht mehr als 3,800 gr. Traubenzucker. Barth ist geneigt, diese Unvollständigkeit für eine Eigenthümlichkeit der Invertinreaction zu halten. Nach Kjeldahl[3]) verwandelt das Invertin, ohne auf andere Kohlenhydrate zu wirken, den Rohrzucker leicht und vollständig in Invertzucker; die günstigste Temperatur ist zwischen 52 und 56°. Leider stand mir die Originalabhandlung von Kjeldahl nicht zur Verfügung, so dass ich nicht zu entscheiden vermag, in welcher Beziehung 52—56° als günstigstes Temperaturintervall vom Verfasser oder Referenten bezeichnet worden ist.

Bedeutet diese Angabe, dass bei 52—56° die Geschwindigkeit der Reaction am grössten ist oder dass sie bei anderen Temperaturen nicht vollständig ist und es nur bei dieser wird?

Auch O. Kellner[4]) gibt an, dass bei 40° Invertin allen Rohrzucker invertirt.

Folgende Versuche wurden zur Lösung dieser Widersprüche angestellt. 200 cbcm. einer Rohrzuckerlösung, enthaltend 0,920 gr. Invertin, wurden bei 25° invertirt. Die anfängliche Drehung der Lösung betrug + 698′ und hätte, wenn aller Rohrzucker invertirt worden wäre, bis auf — 220′ sinken müssen. Nach 384 Min. wurde der Drehungswinkel — 110′, nach 552 Min. — 113′ und nach 3046 Min. — 130′ beobachtet. In 2500 Min. hatte also der Drehungswinkel nur um 17′ abgenommen. Die

---

[1]) Will u. Körner, Liebig's Ann., Bd. 125, S. 264, 1863.

[2]) Barth, Berl. Ber., 1878, S. 482.

[3]) Kjeldahl, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, Heft 3, 1881, Kopenhagen, citirt aus Zeitschrift f. analytische Chemie, Bd. 22, S. 588, 1883.

[4]) O. Kellner, Mori u. Nagaoka, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 297, 1890.

Reaction ist nach so langer Zeit wohl beendet und ist bei 25° nachweisbar unvollständig. Etwa 500 Min. lang blieben die Reactionsgemische vollständig klar, dann begannen sie sich rasch durch Ausscheidung von Spaltungsproducten des Ferments und Entwickelung von Mikroorganismen zu trüben. Die geringe Abnahme der Drehung von 17′ ist wahrscheinlich der Thätigkeit von Mikroorganismen zuzuschreiben. Bei 46° invertiren 0,1 gr. Invertin in 40 cbcm. einer 10procentigen Rohrzuckerlösung in 3 Tagen fast vollständig oder vollständig. Die Wirkung von Invertin auf Rohrzucker ist also zwischen 0—30° sicher unvollständig, bei 45° dagegen nahezu vollständig. Wollte man entscheiden, wie viel bei 45° unzersetzt bleibt, so hätte man mit sterilisirten Lösungen zu arbeiten.

Leider hat O. Kellner[1]) für das interessante Ferment aus dem Koji nicht die Unvollständigkeit der Reactionen, die es im Stande ist hervorzurufen, constatirt. Nach dem, was er über die von Ferment aus Koji bewirkten Reactionen angibt, ist die Unvollständigkeit dieser Reactionen sehr wahrscheinlich. Koji-Extracte sollen nach 2—3stündiger Wirkung bei 40° 70% Rohrzucker in Dextrose und Lävulose, 70% Maltose in Dextrose überführen. Invertin, fährt Kellner fort, invertirt unter obigen Bedingungen allen Rohrzucker.

Bei den bis jetzt betrachteten Reactionen veränderte sich während der Reaction wenn auch nie die ganze Menge des der Reaction unterliegenden Stoffes, so doch stets ein recht bedeutender Theil desselben. Es gibt aber noch Fermentreactionen, durch die nur sehr geringe Mengen der vorhandenen Substanz verändert werden. Ein Beispiel solcher Reactionen ist die Wirkung von Emulsin auf Harnstoff.

Nach C. Schmidt[2]) verwandelt sich Harnstoff in Gegenwart von Emulsin in kohlensaures Ammon. Lösungen, die folgende Anzahl von Gramm-Molekülen Harnstoff und wech-

---

[1]) O. Kellner, Mori u. Nagaoka, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 297, 1890.

[2]) C. Schmidt, Liebig's Ann., Bd. 61, S. 168, 1847.

selnde Fermentmengen in 100 cbcm. Lösung enthielten, verbrauchten nach der Zeit ϑ (in Stunden) die tabellirten Cubikcentimeter $^1/_{10}$-Normal-Säure:

ϑ	0,05 gr.-M. Harnstoff und 10 cbcm. Emulsinlösung.	0,02 gr.-M. Harnstoff und 10 cbcm. Emulsinlösung.	0,02 gr.-M. Harnstoff und 20 cbcm. Emulsinlösung.
6 Stunden . .	0,05 cbcm.	0,1 cbcm.	0,2 cbcm.
22 » . .	0,2 »	0,3 »	0,6 »
46 » . .	0,3 »	0,6 »	0.9 »
96 » . .	0,7 »	0,8 »	1,2 »
154 » . .	1,1 »	0,8 »	1,2 »
	Von der vorhandenen Harnstoffmenge wurden zersetzt:		
	0.1 %	0,4 %	0,6 %

Die erwähnten Reactionsgemische waren alle im Anfange der Reaction homogen und ein grosser Theil derselben blieb während des ganzen Verlaufs der Reaction homogen. In allen soeben erwähnten Fällen enthielten die Lösungen, in denen die Reaction beendigt war, bedeutende Mengen von Spaltungsproducten gelöst.

Heterogene Systeme (a).

Man kennt noch eine Reihe anderer Fermentreactionen, bei denen das Reactionsgemisch anfangs heterogen ist. Pepsin vermag in Gegenwart von Salzsäure die Auflösung ausserordentlich zu beschleunigen, und Ptyalin führt aufgequollene Stärke in Zucker über. Sind auch diese Reactionen unvollständig und unter welchen Bedingungen sind sie unvollständig?

Ueber diese Frage geben die Beobachtungen von Brücke und Cohnheim die gewünschte Aufklärung. Cohnheim[1]) untersuchte die Wirkung von Ptyalin auf in reichlichen Mengen Wasser aufgequollene Stärke. Cohnheim sagt über den Endzustand dieser Reaction Folgendes: «Es stellte sich bald zur Evidenz heraus, dass gleichwohl, ob ich die ursprüng-

[1]) Cohnheim, Archiv für patholog. Anatomie v. Virchow, Bd. 28, S. 241—253, 1863.

liche concentrirte oder 2-, 4-, 8- und mehrfach verdünnte Lösungen von Ptyalin anwandte, immer die Umwandlung aufhörte, oder doch sehr an Intensität nachliess, sobald die Mischung einen bestimmten, nicht immer gleichen, indess meist zwischen 1,5 und 2,5 % schwankenden Gehalt an gelöstem Dextrin und Zucker gewonnen hatte, obschon sich einestheils durch Jod noch reichlich Stärke nachweisen liess, anderntheils die noch immer erhaltene neutrale oder schwach alkalische Reaction jeden Verdacht einer weiteren Umsetzung des gebildeten Zuckers in Säuren, denen man dann die Hemmung der weiteren Umsetzung hätte Schuld geben können, vollständig zurückwies. Dass vielmehr die Anwesenheit des erwähnten Zuckers allein ausreicht, jene Stockung in der Umwandlung zu erklären, davon kann man sich durch den einfachsten Versuch überzeugen: ein verdünnter Stärkekleister von gleichzeitig 3 % Zuckergehalt dem Speichelferment zugesetzt, gibt noch nach sehr beträchtlich längerer Zeit mit Jod tiefblaue Reaction, als unter denselben Verhältnissen der zuckerfreie; andererseits aber kann in der Concentration der Mischung allein das Hinderniss auch nicht liegen, da ein ähnlicher Gehalt der Flüssigkeit an Chlornatrium oder sonst einem indifferenten Salze keineswegs hemmend einwirkt. Einer Veränderung des Ferments selbst aber jene Stockung zuschreiben zu wollen, das verbietet die Erfahrung, da immer die Umwandlung von Neuem wieder beginnt, sobald die Mischung ausreichend verdünnt wird.»

Brücke[1]) bemerkt, dass man die etwa stehen gebliebene auflösende Wirkung einer salzsauren Pepsinlösung auf Fibrinflocken durch Zusatz von Salzsäure wieder in Gang bringen kann. Also kann auch diese Reaction aufhören, bevor alles Eiweiss gelöst worden ist, trotzdem das in der Lösung vorhandene Ferment noch wirkungsfähig ist.

Es gehören hierher noch die Wirkung von Diastase auf Stärke und von Trypsin auf Eiweissstoffe. Diese Reactionen sind complicirt. Stärke und Eiweiss erleiden unter Wirkung

---

[1]) Brücke, Wiener Sitzungsber., Bd. 43, S. 608, 1861.

verschiedener Fermente eine primäre Umwandlung, die Producte der primären Umwandlung unterliegen aber in einigen Fällen noch einer secundären Einwirkung durch das Ferment. Auch für diese Reactionen wird man wohl zeigen können, dass dieselben, wenn nur der spaltbare Stoff in genügenden Mengen vorhanden ist, unvollständig sind. Ist die Menge des unlöslichen, der Veränderung unterliegenden, Stoffes geringer, als die im Endzustande gespaltene, so wird die Reaction vollständig.

Heterogene Systeme (b).

Es sind einige Fälle bekannt, in denen die Reactionsgemische bei Beginn der Reaction homogen sind, während der Reaction aber durch Ausscheidung von schwer löslichen Spaltungsproducten heterogen werden. Zu diesen Reactionen gehören die fermentativen Gerinnungen, die Wirkungen des Fibrinfermentes, die des Labfermentes und ferner das von Hoppe-Seyler und Popoff[1]) gefundene Ferment, welches ameisensauren Kalk in kohlensauren Kalk, Kohlensäure und Wasserstoff spaltet.

Alexander Schmidt[2]) gibt an, dass ein Theil des Paraglobulins (fibrinoplastische Substanz) nach der Gerinnung immer im Serum zurückbleibt.

Das Labferment scheint alles Casein aus der Lösung fällen zu können, es scheint diese Reaction immer vollständig zu verlaufen.

Als allgemeine Regel hat sich also ergeben: dass die Fermentreactionen unvollständig sind. Es existiren nur wenige Ausnahmen von der Regel: Invertin scheint bei 40—50° die Inversion des Rohrzuckers fast vollständig bewirken zu können. Doch ist sicher und mit wünschenswerther Genauigkeit diese Ausnahme noch nicht erwiesen. Die einzige sichere Ausnahme von der Regel ist die Labreaction.

---

[1]) Hoppe-Seyler, Pflüger's Archiv, Bd. 12, S. 1, 1876; L. Popoff, Pflüger's Archiv, Bd. 10, S. 113, 1875.

[2]) A. Schmidt, Die Lehre von den fermentativen Gerinnungserscheinungen, Dorpat 1876, S. 18.

Der Endzustand der Fermentreactionen ist kein Gleichgewichtszustand.

Von zwei grossen Reactionsgruppen, die zu den hydrolytischen Reactionen gehören, wissen wir, dass die Gleichgewichtszustände, zu denen sie führen, von der Temperatur fast unabhängig sind. Es sind die Gleichgewichte bei der Esterbildung und bei der Concurrenz zweier Säuren um eine Base.

Der Endzustand der Fermentreactionen aber ist in hohem Grade von der Temperatur abhängig und zwar in der Weise, dass bei einer bestimmten Temperatur (die nicht weit von 50° C. liegt) die Menge des im Endzustande gespaltenen Stoffes ein Maximum erreicht. Man hat schon hier bei der Discussion über den Endzustand der Fermentreactionen seine Aufmerksamkeit auf diesen Punkt zu lenken, weil die Endzustände unterhalb der Temperatur des Maximums der Wirkung von denen, die oberhalb der Temperatur des Maximums erreicht werden, sich wesentlich unterscheiden.

Wir beginnen mit den Endzuständen unterhalb der Temperatur des Maximums der Wirkung. Es ist leicht zu zeigen, dass diese Endzustände nicht Gleichgewichtszustände repräsentiren, dass die Fermentreactionen nicht umkehrbar sind, dass sich aus den Spaltungsproducten und dem Ferment der der Wirkung unterliegende Stoff nicht zurückbilden kann.

In der That können, wie folgende Versuche lehren, die Fermentreactionen nur in einer Richtung vor sich gehen. Eine Lösung, die in 100 cbcm. 2,72 gr. Salicin und 50 mgr. Emulsin enthielt, drehte vor Beginn der Reaction die Polarisationsebene des Lichts um + 249′. War der Endzustand der Reaction bei folgenden Temperaturen erreicht, so betrugen die Drehungswinkel

bei 40° + 122′,
» 20° + 186′,
» 5° + 207′.

Brachte man die Lösungen, die bei 20° und bei 40° ihren Endzustand erreicht hatten, auf 5°, so blieben ihre Drehungswinkel auch nach 24 Stunden unverändert 120′ und 186′. Erwärmte man dieselben Lösungen auf 40°, so erreichten

dieselben fast den Endzustand der Lösung, die nur der Temperatur von 40° ausgesetzt worden war. Das Ferment war also in den Lösungen noch wirkungsfähig, konnte aber eine Umkehr der Reaction nicht bewirken.

Ebenso lässt sich die Nichtumkehrbarkeit der Reaction zwischen Invertin und Rohrzucker zeigen. Betrug der ursprüngliche Drehungswinkel einer Rohrzuckerlösung, die in 25 cbcm. 90 mgr. Inverttin enthielt, + 760′, so betrugen die Drehungswinkel einer Lösung, in der die Reaction bei

0° + 25° + 35° + 50° vor sich gegangen war,
+ 300′ — 60′ — 94′ — 20′.

Kühlt man die Lösungen auf 0° ab, so verändert sich in 5 Stunden der Drehungswinkel der Lösungen nicht, trotzdem bei einem Zusatz von Rohrzucker zu denselben Lösungen bedeutende Mengen invertirt wurden.

Aehnliche Versuche mit Emulsin und Amygdalin geben, wenn man die im Endzustande vorhandenen Blausäuremengen bestimmt, scheinbar widersprechende Resultate. Emulsin vermag nämlich verdünnte Blausäure zu verändern. In 30 cbcm. Lösung befanden sich ursprünglich 0,510 gr. Amygdalin und 50 mgr. Emulsin. Nachdem die Reaction bei 40° ihren Endzustand erreicht hatte, ergab die Titration der freigewordenen Blausäure nach Volhard's Methode 64 % zersetzten Amygdalins. Kühlt man dann dieselbe Lösung auf 10° ab, so findet man nach 5 Stunden nur 38 % zersetzten Amygdalins. Fast die Hälfte der zuerst vorhandenen Blausäure ist nach der Abkühlung nicht mehr nachweisbar. Versetzt man eine verdünnte Lösung von Blausäure mit verschiedenen Mengen von Emulsin, so bemerkt man, dass nach 24 Stunden bedeutende Mengen von Blausäure, 5 % bis 50 %, nicht mehr nachzuweisen sind. Diese Verluste an Blausäure hängen nur von der Concentration der Blausäure und der Temperatur, nicht aber von der Menge des vorhandenen Ferments ab. Ein Zusatz von Benzaldehyd, Traubenzucker oder Amygdalin verändert den Titer der Blausäure nicht. Ich habe die Reaction, um die es sich hier handelt, nicht weiter aufzuklären versucht. Jedenfalls ist die Verdünnung der Blausäuremenge in der abgekühlten

Lösung nicht auf eine Rückbildung von Amygdalin zurückzuführen. Dass eine Rückbildung von Amygdalin nicht ausführbar ist, zeigen folgende Versuche zur Synthese von Amygdalin und Salicin.

Mischt man äquivalente Mengen von Blausäure, Traubenzucker und Benzaldehyd und fügt dann zu dieser Lösung Emulsin, so nimmt die Lösung nicht den Geschmack von Amygdalin an. Ebenso schmeckt ein Gemenge von Saligenin und Traubenzucker auch nach längerem Verweilen in der Mundhöhle nicht nach Salicin. Wohl vermag der Speichel Salicin zu zersetzen, nicht aber dasselbe aus seinen Componenten zu bilden.

Erreicht eine Fermentreaction unterhalb der Temperatur des Maximums ihren Endzustand, so wird beim Erwärmen des Reactionsgemisches die Reaction wieder in Gang kommen, beim Abkühlen aber stehen bleiben. Eine Wiederbildung des gespaltenen Stoffes tritt nicht ein. Damit dürfte bewiesen sein, dass der Endzustand der Fermentreaction kein Gleichgewichtszustand ist.

Für die Endzustände, die oberhalb der Temperatur des Maximums erreicht werden, liegen die Verhältnisse anders. Weder Abkühlung noch Erwärmung des Reactionsgemisches influirt auf den Endzustand der Reaction.

Es ist eine bekannte Thatsache, dass Fermentlösungen bei höherer Temperatur (über 50° C.) rasch ihre Wirkungsfähigkeit vollständig einbüssen. Aug. Schwarzer[1]) bestimmte die Zeiten, die bis zum Nichtauftreten der Endreaction in mit Malzextract versetztem Kleister verstrichen. Erwärmte man den Malzextract, bevor derselbe mit Kleister gemischt wurde, für sich, so wirkte die Diastase viel schwächer. Schon ein Vorwärmen bei 50° wirkte zerstörend auf die Diastase. Mit steigender Temperatur wächst die Geschwindigkeit des Zerfalls der Diastase rasch. Zu ähnlichen Resultaten kam auch V. Paschutin betreffs des Ptyalins[2]).

---

[1]) Aug. Schwarzer, Journ. f prakt. Chem., Bd. 1, S. 212—230, 1870.
[2]) V. Paschutin, Archiv f. Anat. u. Physiol., 1871, S. 304.

Gewöhnlich wird über der Temperatur des Maximums der Endzustände das Ferment früher zerfallen sein, als die der Wirkung unterliegende Substanz vollständig gespalten ist. Ueber der Temperatur des Maximums existirt neben dem ursprünglichen Stoff und den Spaltungsproducten desselben kein wirkungsfähiges Ferment, sondern dieses ist während der Reaction zu Grunde gegangen, und nur die unwirksamen Spaltungsproducte des Ferments sind vorhanden.

Bei 80° zerfallen die Fermente in wässeriger Lösung so rasch, dass sie während der ganzen Zeit bis zu ihrem vollständigen Zerfall nur sehr wenig Substanz zu spalten vermögen. Erhitzt man die trockenen Fermente über 100°, so spalten sich dieselben ebenfalls[1]), aber die Geschwindigkeit der Reaction ist trotz der höheren Temperatur bedeutend geringer als bei 80° in wässeriger Lösung. Es sind also auch die Fermente wie die meisten chemischen Agentien in wässerigen Lösungen viel reactionsfähiger als im ungelösten Zustande oder in anderen Lösungsmitteln, wenn solche überhaupt für Fermente gefunden werden sollten.

Aus folgenden Versuchen Herrn cand. chem. Fischer's geht hervor, dass in den Reactionsgemischen, deren Endzustand bei 70° C. erreicht wurde, nach der Erreichung des Endzustandes kein wirksames Ferment vorhanden ist. In 100 cbcm. Lösung befanden sich 3,007 gr. und folgende Mengen von Emulsin in Grammen. Die gespaltene Salicinmenge wurde aus der mit Fehling'scher Lösung bestimmten Traubenzuckermenge berechnet.

Fermentmenge . .	0,5 gr.	0,25 gr.	0,125 gr.	0,0625 gr.	0,0312 gr.	0,0156 gr.
Gespalt. Salicin (bei 70° nach 1 Std.)	69,5 %	66,0 %	46,4 %	41,3 %	26,4 %	17,0 %
Gespalt. Salicin (bei 70° nach 20 Std.)	69,5 %	66,0 %	46,5 %	41,3 %	26,4 %	17,0 %

Darauf wurden diese Lösungen auf 46° C. abgekühlt; ihre Zusammensetzung blieb dieselbe, sowohl nach 16, als

---

[1]) Hüfner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 5, S. 372, 1872; A. Schmidt, Centralbl. f. med. Wissenschaften, 1876, No. 29; Salkowski, Virchow's Archiv, Bd. 70, S. 158, 1877, und Bd. 87, S. 552, 1880.

nach 24 Stunden, und doch hätte dieselbe, wenn das Ferment nicht zerstört worden wäre, folgende Werthe annehmen können:

Fermentmenge . . .	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0156
Gespaltenes Salicin in °/₀	94,5	94,4	94,4	85,0	75,5	64,0.

Ursachen der Unvollständigkeit der Fermentreactionen.

Fragt man sich nach dem Grunde der Unvollständigkeit der Fermentreactionen, so dürfte man geneigt sein, dieselbe einer theilweisen oder vollständigen Zersetzung des Ferments zuzuschreiben. Unterscheiden wir zwei Arten von Endzuständen, die über und die unter der Temperatur des Maximnms die Wirkung erreichten. Für jene steht fest, dass sie eingetreten sind, weil das Ferment zerstört worden ist, für diese ist jene Erklärung unzulässig. Denn erstens: die Reaction vermag, nachdem sie ihren Endzustand erreicht hat, durch Erwärmen nochmals wieder in Gang zu kommen; zweitens wird ein anderer Stoff, den man zu einem sich im Endzustande befindenden Reactionsgemisch fügt, gespalten, und drittens wird, wenn in verdünnten Lösungen die der Wirkung unterliegende Substanz relativ mehr gespalten wird als in concentrirten Lösungen, bei Verdünnen des Reactionsgemisches die Reaction von Neuem vor sich gehen. Ein Theil der diese Sätze illustrirenden Versuche ist schon S. 285 mitgetheilt worden; es mögen hier noch einige Versuche folgen.

Löst man in einer Lösung von Emulsin und Amygdalin, in der die Reaction ihren Endzustand erreicht hat, Salicin auf, so beginnt die Reaction auf das Salicin erst 10 Minuten nach Auflösung des Salicin. Dasselbe beobachtet man bei der Wirkung einer im Endzustande befindlichen Lösung von Emulsin und Salicin auf eine solche von Amygdalin. Es vergeht eine messbare Zeit, bevor die im Endzustande der Reaction zur Weiterführung derselben ungeeigneten Fermentmoleküle wiederum in den Zustand der Wirkungsfähigkeit gelangen.

Wir sahen früher, dass beim Erwärmen der Lösungen im Endzustande die Reaction wieder von Neuem beginnt. Es fragt sich aber, ob die Reaction, nachdem einmal ein End-

zustand bei niedriger Temperatur erreicht ist durch Erwärmen des Reactionsgemisches, wirklich genau zu dem Endzustande gelangen kann, der erreicht wird, wenn die Reaction sich ausschliesslich bei jener höheren Temperatur vollzieht. Hierüber geben folgende Versuche Herrn Fischer's mit Emulsin und Salicin Aufschluss. In 100 cbcm. Lösung befanden sich 3,007 gr. Salicin und folgende Mengen von Emulsin, welche die verzeichneten Mengen Salicin, in Procenten der ursprünglich vorhandenen Salicinmenge, spalteten.

Bei 0° C.:

Fermentmenge in gr. . . .	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0156
Gespalt. Salicin nach 24 St.	66,0 %	66,0 %	66,0 %	51,8 %	46,4 %	32,6 %
» » » 30 St.	66,1 %	66,1 %	66,0 %	51,8 %	45,5 %	39,5 %

Diese Lösungen, in denen der Endzustand der Reaction erreicht war, wurden auf 35° C. erwärmt:

Gespalt. Salicin nach 20 St.	88,0 %	88,0 %	88,0 %	73,4 %	60,0 %	51,8 %
» » » 24 St.	88,0 %	88,1 %	88,0 %	73,5 %	60,0 %	51,7 %

In Lösungen, in denen die Reaction gleich anfangs bei 35° C. vor sich gegangen war, wurden gefunden:

Gespalt. Salicin nach 15 St.	88,0 %	88,0 %	88,0 %	73,5 %	50,0 %	52,0 %
» » » 20 St.	88,0 %	88,0 %	88,0 %	73,5 %	60,0 %	52,0 %

Die Endzustände der Reaction sind also unabhängig von dem Wege, auf welchem dieselben erreicht werden.

Da die Fermente über der Temperatur des Maximums der Endzustände zerfallen, so werden dieselben auch bei niedrigeren Temperaturen, aber weniger rasch, jener Reaction unterliegen. Eine Emulsinlösung hält sich bei 20° C. 8 Tage lang unverändert. Die Mengen von Salicin, die durch eine frische und eine 8 Tage alte Lösung derselben Concentration gespalten wurden, waren unter einander gleich. Das Invertin zerfällt bei 20° viel schneller als das Emulsin. Für das Invertin wird also der Satz von der Unabhängigkeit der Endzustände vom Wege, auf dem sie bewirkt werden, keine Giltigkeit besitzen. Erwärmt man ein Ferment enthaltendes Reactionsgemisch sprungweise auf immer höhere Temperaturen, indem man nach jeder Temperaturerhöhung den Endzustand eintreten lässt, so kann auf diesem Wege derselbe Endzustand

erreicht werden, der sich einstellen wird, falls das Reactionsgemisch nur jener höchsten Temperatur ausgesetzt war; es wird aber in dem auf jenem Wege erreichten Endzustande weniger Substanz gespalten sein, wenn das Ferment mit merklicher Geschwindigkeit in jenem Temperaturintervall zerfällt.

Der Eintritt des Endzustandes unterhalb der Temperatur des Maximums ist also nicht durch Vernichtung des Ferments bedingt. Dasselbe kann noch keine Wirkungen äussern, ist aber im Reactionsgemisch in einem Zustand der Lähmung vorhanden.

Es liegt nahe zu vermuthen, dass das Ferment durch die von ihm erzeugten Spaltungsproducte gelähmt wird. In der That lässt sich zeigen, dass durch anfänglichen Zusatz der Spaltungsproducte die Reaction ihren normalen Endzustand nicht erreicht, sondern viel früher stehen bleibt.

Fügt man zu verschiedenen Lösungen, die je 0,51 gr. Amygdalin enthalten, immer die gleiche Menge Emulsin, aber verschiedene Mengen von gesättigter Benzaldehydlösung, und bringt alle Lösungen auf 25 cbcm., so sind im Endzustande folgende Amygdalinmengen zersetzt worden. Bei 20°:

Menge der Lösung von Aldehyd:	Zersetzte Amygdalinmenge:
0 cbcm.	20,3 %
1 »	18,8 »
5 »	14,7 »
10 »	11,3 »
In mit Benzaldehyd gesättigter Lösung:	5,7 »

In den beiden letzten Lösungen war eine Fällung von Emulsin eingetreten.

Unter obigen Bedingungen waren bei 23°

nach	Zusatz	von	0	gr.-Mol.	Traubenzucker	23 %	Amygdalin	zersetzt.
»	»	»	0,0001	»	»	22 »	»	»
»	»	»	0,0003	»	»	21 »	»	»
»	»	»	0,0015	»	»	19 »	»	»

Um eine Uebersicht über die Wirkungen verschiedener Stoffe auf den Endzustand der Reaction zu gewinnen, wurden folgende unter einander vergleichbare Versuche angestellt. In

25 cbcm. Lösung wirkten bei 30° immer je 0,50 gr. Emulsin auf 0,001 Grammmoleküle Amygdalin.

Ohne weiteren Zusatz wurden 23,8% und 23,5% Amygdalin gespalten.

Bei	Zusatz	von	0,0001	gr.-Molekülen	Blausäure	18,7%	Amygdalin	gespalten.
»	»	»	0,0002	»	»	16,4 »	»	»
»	»	»	0,0003	»	»	12,1 »	»	»
»	»	»	0,00025	»	Benzaldehyd	19,0 »	»	»
»	»	»	0,00075	»	»	12,5 »	»	»
»	»	»	0,0015	»	Aethyläther	20,7 »	»	»
»	»	»	0,0200	»	Aethylalkohol	23,2 »	»	»

Von den Spaltungsproducten des Amygdalins übt ein Zusatz von Blausäure den grössten Einfluss auf den verfrühten Eintritt des Endzustandes aus, sehr bedeutend wirkt auch das Benzaldehyd, während den schwächsten Einfluss ein Zusatz von Traubenzucker äussert. Die Wirkung der Spaltungsproducte auf den Endzustand der Fermentreactionen ist bedeutend grösser als die anderer Stoffe. Ein Zusatz von Traubenzucker, des am schwächsten wirkenden Spaltungsproductes, wirkt doch noch energischer als der gleiche Zusatz von Aethyläther, welcher wiederum sehr viel stärker als Aethylalkohol wirkt.

Bei der Reaction von Emulsin auf Salicin finden wir dieselbe Wirkung der Spaltungsproducte auf den Endzustand der Reaction. Nach Versuchen von Herrn Fischer werden bei 35° in Lösungen, die in 100 cbcm. 3,007 gr. Salicin und 0,125 gr. Emulsin enthalten, 88,0% Salicin gespalten. Setzt man der Lösung vor Beginn der Reaction 1 gr. Traubenzucker zu, so finden sich, nachdem der Endzustand der Reaction eingetreten ist, 85,5% Salicin gespalten; nach Zusatz von 1 gr. Saligenin aber nur 69,1% gespaltenes Salicin.

Die Richtigkeit der Vermuthung, dass die Spaltungsproducte das Ferment lähmen, kann man auch direct erweisen. Durch Entfernung derselben aus ihrer Lösung muss die Reaction, falls diese Ansicht über die Wirkung der Spaltungsproducte richtig ist, weiter vor sich gehen ja man muss im Stande sein, dieselbe sogar zu Ende zu führen.

Zur Entfernung der Spaltungsproducte gibt es mannigfache Mittel. Dieselben können durch geeignet gewählte

Reactionen in andere Verbindungen übergeführt werden, durch geeignete Lösungsmittel oder durch Dialyse den Reactionsgemischen entzogen werden und schliesslich Mikroorganismen, die weder das Ferment noch den der Spaltung unterliegenden Stoff verändern, zur Zerstörung übergeben werden. Die folgenden Versuche zeigen, dass durch Entfernung eines der Spaltungsproducte aus einem sich im Endzustande befindenden Reactionsgemisch die Reaction immer wieder von Neuem in Gang kommt, ja in einem Falle sogar vollständig wird. Letzteres brauchte nur nach Entfernung aller Spaltungsproducte einzutreten. Da die Spaltungsproducte aber, wie wir sahen, verschieden auf den Eintritt des Endzustandes wirken, so kann man nicht im Voraus, ohne diesbezügliche Versuche, angeben, welches Spaltungsproduct am stärksten lähmend wirkt, kann also auch nicht dasjenige Spaltungsproduct angeben, durch dessen Entfernung die Reaction am weitesten vorwärts gebracht wird.

Die Versuche sind von Herrn Fischer ausgeführt worden.

1. Die Lösung enthielt 3,007 gr. Salicin und 0,125 gr. Emulsin in 100 cbcm. Bei 26° waren 83 % Emulsin im Endzustande der Reaction gespalten. Das sich im Endzustande der Reaction befindende Reactionsgemisch wurde mit $^1/_3$ seines Volumens Aether zur Entfernung eines Theils des Saligenins geschüttelt, dann weiter 24 Stunden auf der Temperatur 26° erhalten und schliesslich von Neuem untersucht. Die Reaction war vollständig geworden.

2. Die Lösung enthielt 5,00 gr. Amygdalin und 0,125 gr. Emulsin in 100 cbcm. Bei 26° waren im Endzustande der Reaction 30,6 % Amygdalin gespalten. Nachdem das Reactionsgemisch in derselben Weise mit Aether behufs Extraction von Benzaldehyd und Blausäure behandelt war, wurden nach 24 Stunden 35 % Amygdalin zersetzt gefunden.

3. Die Lösung enthielt in 100 cbcm. 0,5 gr. Coniferin und 0,0078 gr. Emulsin. Bei 26° wurden 42 % Coniferin gespalten. Nach der Behandlung mit Aether wurden nach 24 Stunden 60 % zersetztes Coniferin gefunden.

Nach Beendigung dieser Versuche fand ich einen Versuch, den wahrscheinlich W. Kühne[1]) angestellt hat; in dessen Lehrbuch heisst es: «Bringt man eine von überschüssigem unverdautem Fibrin abfiltrirte Verdauungsflüssigkeit auf einen Dialysator, so diffundirt der grösste Theil der Peptone in das Wasser, während das Pepsin auf dem Dialysator zurückbleibt. Die während des Diffusionsprocesses wasserreicher gewordene Lösung löst dann nach dem Verdunsten auf ihr ursprüngliches Volumen und Herstellung ihres anfänglichen Säuregrades fast genau ebenso viel Fibrin auf, als sie schon einmal gelöst enthielt. Die Peptone sind es folglich, welche die Verdauung hinderten.» Dieser Versuch und seine Consequenzen ist leider ohne Folge geblieben. Die grosse Menge der sich mit Fermenten beschäftigenden Forscher ist durch diesen Versuch nicht über den Endzustand der Fermentreactionen unterrichtet worden.

Nicht nur durch Entfernung und Vernichtung der Spaltungsproducte ist man im Stande, eine Fermentreaction vollständig zu machen, sondern auch durch wiederholten Zusatz von Ferment wird dasselbe Ziel erreicht. Im folgenden Abschnitt wird gezeigt werden, dass mit wachsender Fermentmenge die im Endzustande gespaltene Substanzmenge zunimmt, dass aber von einer bestimmten Concentration des Ferments an die gespaltene Substanzmenge unabhängig von der Menge des Ferments wird. Fügt man also zu der Lösung eines spaltbaren Stoffes eine noch so grosse Fermentmenge hinzu, so kann die Reaction nie vollständig werden. Um eine gegebene Substanzmenge durch so wenig als möglich Ferment doch vollständig zu spalten, hätte man etwa in folgender Weise zu verfahren: Man fügt zuerst so viel Ferment zur Lösung des Stoffes, als gerade nothwendig ist, um bei der Temperatur, bei der die Reaction vor sich gehen soll, das Maximum der Wirkung zu erlangen; nachdem dann der Endzustand der Reaction eingetreten ist, fügt man eine neue Portion hinzu,

---

[1]) W. Kühne, Lehrbuch der physiologischen Chemie v. W. Kühne, 1866, S. 39.

und nachdem wiederum der Endzustand der Reaction sich eingestellt hat, wiederholt man den Zusatz, bis der zu spaltende Stoff vollständig zerfallen ist. Dass dieser Weg zum Ziele führen kann, beweisen die folgenden Versuche. Welcher Weg in Praxis zur Vollendung der Reaction einzuschlagen ist, kann natürlich nur entschieden werden, wenn die Bedingungen und die Art der Spaltung gegeben sind.

Fügt man zu einer Lösung, die ursprünglich in 100 cbcm. 3,007 gr. Salicin enthielt und in der durch 0,125 gr. Emulsin bei 26° 83 °/₀ Salicin gespalten waren, noch 0,125 gr. trockenes Emulsin, so begann die Reaction von Neuem. Nach 24 Stunden war wieder ein Endzustand erreicht; es waren 98 °/₀ Salicin gespalten.

In einer Lösung, enthaltend in 100 cbcm. 5,000 gr. Amygdalin und 0,125 gr. Emulsin, waren bei 26° im Endzustande der Reaction 30,6 °/₀ Amygdalin gespalten. Ein Zusatz von 0,125 gr. trockenen Emulsins brachte die Menge des gespaltenen Amygdalins auf 35 °/₀.

Die gefundenen Thatsachen umschreibend, kann man sich folgende Vorstellungen über den Grund der Unvollständigkeit von Fermentreactionen bilden. Die während der Reaction entstehenden Spaltungsproducte wandeln das wirksame Ferment in eine unwirksame Modification um. Die unwirksame Modification ist nur in Gegenwart der Spaltungsproducte beständig und wandelt sich leicht wieder in die wirksame Modification zurück. Die beiden Modificationen können als isomer betrachtet werden.

Von diesem Standpunkte sind auch die Ausnahmefälle, in denen die Fermentreaction vollständig wird, verständlich. Ist die Umwandlung des Ferments in die unwirksame Modification, während der die sich verändernde Substanz zerfällt, vollständig geworden, so geht die Fermentreaction nicht weiter vor sich. Die Menge des im Endzustande der Reaction gespaltenen Stoffes hängt von der Reactionsgeschwindigkeit, mit der die Fermentreaction verläuft, und der Reactionsgeschwindigkeit, mit der sich die wirksame Fermentmodification in die unwirksame umwandelt, ab. Letztere Geschwindigkeit

ist eine Function der wachsenden Menge von Spaltungsproducten. Gewöhnlich, wenn die Spaltungsproducte löslich sind, tritt der Endzustand, bevor die Reaction vollständig geworden ist, ein. Sind die Spaltungsproducte unlöslich, scheiden sich dieselben also während der Reaction aus, so ist kein Grund zur Bildung der unwirksamen Modification vorhanden und die Reaction kann wie die Labreaction vollständig werden.

Ich erinnere mich der Angabe, dass der Zerfall eines Ferments über 50° durch Zusatz von Spaltungsproducten verzögert wird. Es deutet dieses darauf hin, dass die beiden Fermentreactionen mit sehr verschiedener Geschwindigkeit, und zwar die unwirksame mit geringerer, zerfallen.

Die Abhängigkeit des Endzustandes von der Menge des Fermentes.

1. Wirkung von Emulsin auf Amygdalin.

Aus den nach der Methode von Volhard bestimmten Blausäuremengen wurde die Menge des zersetzten Amygdalins in Procenten des ursprünglich Vorhandenen berechnet. Löst man je 0,255 gr. Amygdalin und die folgenden Mengen Emulsin in 30 cbcm. Wasser, so findet man nach Verlauf der Reaction bei 40° C. folgende Amygdalinmengen zersetzt. Natürlich wurde durch wiederholte Titration der Blausäure in jedem einzelnen Falle die Sicherheit gewonnen, dass die Reaction wirklich den Endzustand erreicht hatte.

Menge des Emulsins in mgr.	0,7	1,5	3,1	6,2	12,5	25	50
Zersetztes Amygdalin . .	10%	20%	40%	60%	60%	60%	60%.

2. Wirkung von Emulsin auf Salicin.

Betreffs der Darstellung des zu allen folgenden Versuchen benutzten Emulsins ist Folgendes zu bemerken: Nach dem Verfahren von Buckland W. Bull[1]) wurde aus 400 gr. süssen Mandeln 600 cbcm. wässerigen Extractes gewonnen, aus welchem das Emulsin fractionirt gefällt wurde. Die erste Fraction fiel durch Zusatz von 200 cbcm. 85% Alkohols;

---

[1]) W. Bull, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 69. S. 145. 1849.

die zweite durch Zusatz von 300 cbcm. und die beiden folgenden durch Zusatz von je 200 cbcm. desselben Alkohols. Die einzelnen Fractionen wurden in gleicher Weise zuerst mit 95 % Alkohol, dann mit absolutem Alkohol gewaschen und unter der Luftpumpe über Schwefelsäure getrocknet. Stellt man die Wirkungsfähigkeit der verschiedenen Fractionen auf Salicin fest, indem man die Mengen des im Endzustande zersetzten Salicin bestimmt, so findet man, dass die erste Fraction am meisten Salicin spaltet. Die drei folgenden Reactionen wirken fast gleich. Hornartiges an der Luft bei Zutritt von Wasserdampf getrocknetes Emulsin und das pulverförmige unter der Luftpumpe über Schwefelsäure getrocknete Präparat derselben Fraction üben gleiche Wirkungen aus.

Eine Lösung von Salicin, in 20 cbcm. 0,602 gr. Salicin enthaltend, ergab im 2 dcm.-Rohr den Drehungswinkel — 3,83°. Nach 24stündiger Einwirkung von 50 mgr. Emulsin der verschiedenen Fractionen bei 17° auf jene Lösungen wurden folgende Drehungswinkel beobachtet:

Nummer der Fractionen	I.	II.	III.	IV.
Drehungswinkel . . .	+ 1,55°	— 0,30°	— 0,25°	— 0,25°.

Zu allen folgenden Versuchen mit Emulsin wurde das Gemenge der drei letzten Fractionen benutzt.

Die Analyse der Reactionsgemische kann nicht auf polaristrobometrischem Wege ausgeführt werden, da der Drehungswinkel einer Lösung, die Salicin und Traubenzucker enthält, nicht gleich ist dem Mittel der Drehungswinkel, die dem Salicin und Traubenzucker jedem für sich in der Lösung zukommen. Folgender Versuch zeigt, dass man mit der Kenntniss der specifischen Drehungen für Salicin und Traubenzucker bei der Analyse von Lösungen, die Salicin und Traubenzucker enthalten, nicht auslangt. Eine Lösung von 3,008 gr. Salicin in 100 cbcm. drehte im 2 dcm.-Rohr bei 20° die Polarisationsebene um — 4,03° und eine Lösung von 1,791 gr. Traubenzucker in 100 cbcm. drehte dieselbe unter obigen Bedingungen um + 2,17°. Nach dem Mischen gleicher Volumina beider Lösungen wurde statt des zu erwartenden Drehungswinkels — 1,86° der Drehungswinkel 0,01° beobachtet.

Die Analysen wurden nach dem von Soxhlet[1]) verbesserten Fehling'schen Verfahren ausgeführt. Die grösstmöglichen Beobachtungsfehler betrugen bei den grösseren Mengen gespaltenen Salicins 1 %, bei den kleineren sanken sie auf 0,3 %. Die Reactionsgemische enthielten in 100 cbcm. Lösung 3,0069 gr. Salicin und die in der ersten Spalte der Tabelle angegebenen Emulsionsmengen in Milligrammen. Es sind ferner die Zeiten, die seit der Herstellung der Reactionsgemische bis zur Titration derselben verflossen, am Kopf jeder Colonne verzeichnet. Die Colonnen enthalten die Mengen von gespaltenem Salicin in % des ursprüglich Vorhandenen. Die Uebereinstimmung der Titration nach verschiedenen Zeiten benimmt jeden Zweifel über die wirkliche Erreichung des Endzustandes der Reaction. Die Versuche wurden von Herrn Fischer ausgeführt.

Menge des Emulsins in mgr.	t = 0° nach		t = 17° nach		t = 26° nach		t = 35° nach		t = 46° nach		t = 54° nach		t = 62° nach		t = 72° nach	
	24 St.	30 St.	24 St.	30 St.	20 St.	26 St.	15 St.	20 St.	14 St.	20 St.	14 St.	20 St.	14 St.	20 St.	14 St.	20 St.
500	66,0	66,1	77,7	78,0	82,6	82,6	88,0	88 0	94,0	94,0	94,0	94,5	91,0	90,0	69,5	69,5
250	66.0	66,1	77,7	78,0	82,5	82,6	88,0	88,0	94,4	94,5	85,2	85,0	77,7	77,7	66,0	66,0
125	66,0	66.0	77,7	78,0	82,6	82.6	88,0	88,0	94,4	94,4	73,4	73,4	67,7	67,7	46,4	46,4
62,5	51,8	51,8	60,0	60,0	66,0	66,0	73,5	73,5	85,0	85,0	69,5	69,5	63,0	62,9	41,3	41,3
31,2	46,4	46,5	52,0	52,0	55,0	55,0	60,0	60,0	75,0	75,0	66,0	66,0	39,4	39,4	26,4	26,4
15,6	32,6	32,5	39,5	39,5	46,5	46,5	52,0	52,0	64,0	64,0	55,4	55.4	33,2	32,2	17,0	17,0
11,7	27,2	27,2	33,7	33,7	43,3	43,5	49,3	49,3	44,7	44,5	38,8	38,8	—	—	—	—
7,8	17,9	18,0	29,1	29,1	39,2	39,2	46,5	46,5	34,2	34,0	33,2	33,2	—	—	—	—
3,9	11,7	11,6	22,0	22,0	34,0	34,0	24,5	24,5	23,9	24,0	19.5	19,5	—	—	—	—

Tafel I und II.

3. Wirkung von Emulsin auf Arbutin.

Nach Hlasiwetz und Habermann[2]) gibt ein Molekül Arbutin $C_{25}H_{34}O_{14}$ bei seiner Spaltung durch Emulsin zwei Molekel Traubenzucker und je ein Molekül Hydrochinon und Methylhydrochinon.

[1]) Soxhlet, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 21, S. 227—317, 1880.

[2]) Hlasiwetz u. Habermann, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 177, S. 334, 1875; Habermann, Monatsschrift d. Chem., Bd. 4, S. 753, 1884.

Folgender Versuch beweist, dass die polaristrobometrische Methode zur Analyse der Reactionsgemische anwendbar ist. 1 gr. Arbutin in 25 cbcm. Lösung drehte im 2 dcm. langen Rohr die Polarisationsebene um — 4,80° und 1 gr. Traubenzucker im selben Volumen um + 4,35°. Nach Mischung gleicher Volumina beider Lösungen wurde der Winkel — 0,220° beobachtet. Wenn Traubenzucker die Drehung des Arbutins nicht beeinflusst, so ergibt sich der Drehungswinkel der Mischung aus obigen Daten zu — 0,225°. Fügte man der Mischung Hydrochinon hinzu, so veränderte sich der Drehungswinkel nicht. Mit Hilfe der im Landolt'schen Buche[1]) aufgeführten Constanten und dem specifischen Drehungsvermögen von Arbutin — 67,2[2]) wurde aus den beobachteten Drehungswinkeln der Reactionsgemische die Menge des gespaltenen Arbutins in Procenten des ursprünglich Vorhandenen berechnet. Die Lösungen enthielten in 100 cbcm. 4 gr. Arbutin und folgende Mengen von Emulsin:

Menge des Emulsins in mgr.	Zersetztes Arbutin in Procenten bei t = 36°		
	nach 18 Stunden.	nach 42 Stunden.	nach 66 Stunden.
250	Die Lösungen waren so stark gebräunt, dass die Bestimmung ihrer Drehungswinkel nicht ausgeführt werden konnte.		
125			
62,5	44,3	44,4	44,0
31,2	42,6	43,1	43,1
15,6	41,7	42,0	42,0
7,8	41,3	41,6	41,6

4. Wirkung von Emulsin auf Coniferin.

Emulsin spaltet Coniferin in Zucker und Coniferylalkohol. Da Coniferin Fehling'sche Lösung reducirt, so wurde die Analyse der Reactionsgemische auf polaristrobometrischem Wege bewerkstelligt. Allerdings wäre noch der Beweis zu erbringen, dass diese Methode in speciellem Falle ohne Weiteres zulässig ist. Das specifische Drehungsvermögen des Coniferins

[1]) Landolt, Das optische Drehungsvermögen, 1879.

[2]) Feibes, Inauguraldiss., Würzburg 1884.

beträgt nach Wegscheider[1]) —66,9. Die Reactionsgemische enthielten in 100 cbcm. 0,5 gr. Coniferin und die tabellirten Mengen Emulsin in Grammen. Tabellirt sind die Mengen von zersetztem Coniferin in Procenten des ursprünglich Vorhandenen.

Menge des Emulsins in mgr.	Zersetztes Coniferin in Procenten bei t = 35°		
	nach 48 Stunden.	nach 72 Stunden.	nach 96 Stunden.
250	42,1	42,1	42,1
125	42,0	42,0	42,1
62,5	42,1	42,0	42,1
31,2	42,0	42,1	42,0
15,6	42,0	42,0	42,0
7,8	42,0	42,0	42,0
3,9	38,0	38,0	38,0
1,9	37,6	37,6	37,6
0,9	37,0	37,0	37,0

5. Wirkung von Myrosin auf myronsaures Kali.

Myronsaures Kali (Sinegrin) wird nach Will und Körner[2]) von Myrosin in Traubenzucker, Senföl und saures schwefelsaures Kali gespalten. Die Bestimmung der gespaltenen Mengen Sinegrins wurde durch Titration mit $^1/_{50}$-Normal-Natronlauge in alkalischer Lösung und Carminsäure als Indicator ausgeführt. Es wurde festgestellt, dass man bei der Titration von $^1/_{50}$-Normal-Schwefelsäure in Gegenwart von 25 mgr. Myrosin in 10 cbcm. Säurelösung mit dem Indicator Phenolphtalein 13 % zu viel, mit Methylorange 14 % zu wenig und mit Carminsäure 7 % zu wenig Schwefelsäure fand. Setzt man vor der Titration der saures Myrosin enthaltenden Lösung das 3- bis 4fache Volumen Alkohol zu, so fallen die Titrationen der Schwefelsäure zur Zufriedenheit aus. Für die Ueberlassung eines sehr schönen Präparates von Sinegrin bin ich Herrn Prof. Dr. Nicolai Menthien in Warschau zu Dank verbunden. Dasselbe war von Herrn Mag. Alfons Bukowsky nach der in Husemann's Pflanzenstoffe (S. 801) angegebenen Methode hergestellt.

---

[1]) Wegscheider, Ber. d. chem. Ges., Berlin 1885, S. 1600.

[2]) Will u. Körner, Liebig's Ann., Bd. 125, S. 264, 1863.

Das Myrosin wurde nach den Angaben von Will und Laubenheimer[1]) dargestellt.

Die Reactionsgemische enthielten in 10 cbcm. Lösung 41,5 mgr. Sinegrin und folgende Mengen von Myrosin:

Menge des Myrosins in 10 cbcm. Lösung.	Nach 48 Stunden gespalten.	Nach 96 Stunden gespalten.
50	83 %	83 %
25	60 »	74 »
12,5	48 »	59 »
6,2	33 »	39 »
3,1	13 »	16 »

Fassen wir die Hauptresultate zusammen. Mit wachsender Fermentmenge wächst die im Endzustande gespaltene Substanzmenge und erreicht bei einer gewissen Fermentconcentration ein Maximum. Lässt man jetzt die Fermentmenge wachsen, so verändert sich die im Endzustande gespaltene Menge nicht (Tafel I). Die Fermentconcentrationen, bis zu welchen die Unabhängigkeit der Menge des im Endzustande gespaltenen Stoffes gilt, sind nicht erreicht worden. Wahrscheinlich wird bei sehr grossen wachsenden Fermentmengen die Menge des gespaltenen Stoffes wieder abnehmen. Eine hier nicht mitgetheilte Versuchsreihe mit grossen Mengen Emulsin, die auf Amygdalin wirkten, bestätigte diese Vermuthung. Ueber der Temperatur des Maximums tritt innerhalb der untersuchten Concentrationsgrenzen von Emulsin die Unabhängigkeit der Endzustände von der Fermentmenge nicht auf (Tafel II).

Das Emulsin, welches auf Salicin, Coniferin und Arbutin wirkte, war das Product ein und derselben Darstellung. Die Maxima traten bei folgenden Mengen Ferment in 100 cbcm. Lösung ein: Salicin bei 0,125 gr., Coniferin bei 0,0078 gr. und Arbutin über 0,0625 gr. Die Fermentconcentration, von der an Unabhängigkeit der Menge des Gespaltenen von der Fermentmenge eintritt, hängt also von der Natur des zu spaltenden Stoffes ab.

---

[1]) Will u. Laubenheimer, Liebig's Ann., Bd. 199, S. 162, 1879

Für die von Myrosin gespaltenen Mengen von myronsaurem Kali ist ein Maximum nicht erreicht worden, doch deutet der Gang der Zahlen darauf hin, dass dasselbe bei weiterer Vermehrung des Myrosins bald erreicht werden wird. Beim Zerfall des myronsauen Kali bildet sich nach Will und Körner aus dem Senföl unter Abscheidung von Schwefel Cyanallyl. Es wird also ein Reactionsproduct durch eine secundäre Reaction, wenn auch nur theilweise, vernichtet; aus diesem Grunde schreitet die Reaction wahrscheinlich weiter vor, als wenn jene secundäre Reaction nicht stattfände.

Besonderes Interesse beansprucht der Verlauf der Curven gegen den Nullpunkt des Coordinatensystems hin (Tafel I und II). Man findet fast in jedem Lehrbuch der Physiologie den Satz: «unendlich kleine Mengen von Ferment vermögen sehr grosse, ja unendlich grosse Mengen von Stoff zu spalten.» Dieser Satz führte immer wieder zu Anschauungen über Fermentreactionen, deren Gegentheil richtig ist, die in Vergleichen der Fermentreactionen mit Explosionen gipfeln. (Das Ferment wird mit dem in ein Pulverfass fallenden Funken verglichen!) Lässt man die Geschwindigkeitsverhältnisse der Reactionen für's Erste aus dem Spiel, so darf man behaupten, dass die Fermente sich vor allen anderen Beschleunigern der Hydrolyse dadurch auszeichnen, dass sie weniger Substanz spalten als diese. Denken wir uns zwei gleiche sehr grosse Substanzmengen das eine Mal durch Zusatz einer Säure, das andere Mal durch Zusatz eines ungeformten Ferments gespalten, so wird im ersten Fall Alles gespalten werden, im zweiten wird, unter der Voraussetzung, dass nicht besondere Kunstgriffe angewandt werden, ein Theil der Substanz ungespalten zurückbleiben.

Die Fermente unterscheiden sich von anderen Beschleunigern dadurch, dass sie während ihrer Wirkung in eine unter den Reactionsbedingungen unwirksame Form übergehen, die anderen Beschleuniger beharren während ihrer Reaction in ihrem ursprünglichen Zustande. Der Satz: «unendlich kleine Mengen von Ferment vermögen unendlich grosse Stoff-

mengen zu spalten» ist offenbar aus der vor Pasteur'schen Zeit, bevor man noch zwischen geformten und ungeformten Fermenten unterschied, hinübergenommen. Eine einzige Hefenzelle vermag, allerdings wenn sie zu ihrer Fortpflanzung günstige Bedingungen findet, unendlich grosse Zuckermengen zu spalten; das in ihr enthaltene Invertin wird aber nur geringe Rohrzuckermengen invertiren können.

Die Emulsinmengen, die noch auf Amygdalin zu wirken vermögen, sind ausserordentlich gering, es spalten aber solche Mengen auch ausserordentlich wenig Amygdalin. 0,01 mgr. Emulsin spalten mit 0,255 gr. Amygdalin in 30 cbcm. Wasser gelöst in 3 Tagen so wenig Amygdalin, dass die Berlinerblaureaction auf Blausäure versagt. Doch ist es sicher, dass die Spaltung eingetreten ist, da die Lösung den charakteristischen Geruch nach Benzaldehyd besitzt.

Der Satz, dass ungeformte Fermente unendlich grosse Stoffmengen verändern, wird manchmal noch in einem anderen Sinne gebraucht. Man hat sich so sehr daran gewöhnt, dass das Aequivalenzgesetz die Reactionen beherrscht, dass man alle Reactionen, für die dasselbe nicht gilt (also alle katalytischen Reactionen), für merkwürdig erklärt und nur zu schnell mit dem Vergleich dieser mit Fermentreactionen bei der Hand ist. Fermente und katalytisch wirkende Substanzen haben nur das Gemeinsame, dass sie die Veränderungen, denen die Stoffe in gelöstem Zustande schon so wie so unterliegen, in sehr merklicher Weise beschleunigen.

Die Abhängigkeit des Endzustandes von der Menge des spaltbaren Stoffes.

Löst man gleiche Emulsinmengen und verschiedene Mengen von Amygdalin in 25 cbcm. Wasser, so werden bei 40° C. folgende Amygdalinmengen zersetzt:

Ursprüngliche Amygdalinmenge.	Davon wurden gespalten	
	Absolute Mengen.	Procentisch. Mengen.
0,51 gr.	0,11 gr.	20%
1,02 »	0,15 »	15 »
2,04 »	0,24 »	12 »

Aehnliche Verhältnisse findet man für die Endzustände der Reactionen bei der Wirkung von Emulsin auf Arbutin wieder. In 100 cbcm. Lösung befanden sich 0,0625 gr. Emulsin und folgende Arbutinmengen bei 35°:

	Nach 48 Stunden waren gespalten.	Nach 72 Stunden waren gespalten.
0,576 gr. Arbutin	52,3 %	52,3 %
4,000 » »	44,0 »	44,0 »

Bei gleichbleibender Fermentmenge wurden in verdünntem Amygdalin und Arbutin relativ mehr gespalten, als in concentrirten Lösungen. Für die Spaltung des Coniferins durch Emulsin gilt wahrscheinlich dieselbe Beziehung; leider kann man wegen der geringen Löslichkeit des Coniferins die Mengen desselben nur wenig variiren.

In 100 cbcm. Lösung befanden sich 0,0625 gr. Emulsin und folgende Mengen von Coniferin bei 35°:

	Nach 48 Stunden waren gespalten.	Nach 72 Stunden waren gespalten.
0,377 gr. Coniferin	42,3 %	42,3 %
0,500 » »	42,0 »	42,0 »

Bei der Reaction von Emulsin auf Salicin sind die relativen im Endzustande der Reaction gespaltenen Mengen unabhängig von der Concentration des Salicins. Wahrscheinlich gilt diese Beziehung nicht für alle Emulsinconcentrationen.

In 100 cbcm. Lösung befanden sich bei 46° 0,125 gr. Emulsin und folgende Mengen Salicin:

	Nach 16 Stunden waren gespalten.	Nach 24 Stunden waren gespalten.
3,007 gr. Salicin	94,4 %	94.4 %
1,503 » »	94,5 »	94,4 »
0,752 » »	94,4 »	94,5 »
0,376 » »	94,4 »	94,3 »
0,188 » »	94,2 »	94,2 »

In einer Beziehung sind die mitgetheilten Versuche lehrreich. In unseren Amygdalin- und Arbutinsystemen wird die Reaction beim Verdünnen der Lösung von Neuem in Gang kommen, nicht aber in den Salicin enthaltenden Lösungen. Für die Zelle können diese Verhältnisse von Bedeutung sein.

Abhängigkeit der Endzustände von der Temperatur.

1. Die Endzustände der Fermentreactionen hängen in hohem Grade von der Temperatur, bei der sie erreicht werden, ab.

Je 30 cbcm. Lösung enthielten 0,51 gr. Amygdalin und 50 mgr. Emulsin. Bei der Temperatur ϑ^0 wurden folgende Amygdalinmengen, in Procenten der ursprünglich vorhandenen Menge, zersetzt:

ϑ^0	10	15	32	46	65	72°
Zersetztes Amygdalin	15	16	24	32	20	5%.

Die Menge des im Endzustande gespaltenen Amygdalins erreicht bei ungefähr 45° ein Maximum. Das Maximum des Endzustandes ist charakteristisch für alle Fermentreactionen.

2. Zustandsgrenzen der Fermentreactionen, Abhängigkeit der Maxima der Endzustände von der Fermentmenge.

Der leichteren Orientirung wegen folgen hier die schon früher gegebenen (S. 298) Resultate über den Einfluss der Temperatur auf die bei der Reaction von Emulsin auf Salicin eintretenden Endzustände, zusammengestellt in Form einer Tafel. Auf der Abscisse sind die Temperaturen, auf der Ordinatenaxe die Procente von gespaltenem Salicin aufgetragen.

Tafel III.

Die Curven, die bei gleichen Fermentmengen und gleichen Mengen des spaltbaren Stoffes die Abhängigkeit der im Endzustande zersetzten Substanzenmenge von der Temperatur darstellen, sind mit 1, 2, 3 u. s. w. in der Tafel bezeichnet. Alle diese Curven darf man sich nach der negativen Seite der Temperaturaxe continuirlich fortgesetzt denken. Unter

0° in unterkühlten Lösungen werden also sehr beträchtliche Mengen Substanz vom Ferment gespalten werden. Extrapolirt man den Schnittpunkt der Curve 7, für die der Endzustand unabhängig von der Fermentmenge wird, mit der negativen Temperaturtaxe, so erhält man die Temperatur — 65°. Falls unsere Extrapolation zulässig ist, darf man behaupten, dass Salicin durch noch so bedeutende Emulsinmengen bei Temperaturen unter — 65° nicht mehr gespalten wird. Können wir über die untere Temperaturgrenze der Fermentreactionen nur Vermuthungen äussern, so sind wir über die obige Temperaturgrenze derselben besser unterrichtet, oder können über diese jedenfalls in allen Fällen die nöthige Auskunft durch Versuche verschaffen. Der steile Abfall der rechten Curvenäste berechtigt die Behauptung, dass über 80° mit noch so grossen Emulsinmengen keine merkliche Reaction auf Salicin hervorgebracht werden kann. Man könnte für unser Curvensystem eine einhüllende Curve construiren, in der Fläche, die diese mit der Temperaturaxe einschliesst, liegen alle möglichen Endzustände, alle Punkte ausserhalb dieser Fläche stellen nicht realisirbare Endzustände dar.

Nach Feststellung der Bedingungen, unter denen die Reaction stattfinden kann, bleibt uns noch die Discussion der interessantesten Eigenschaft unserer Curven, die Lage ihrer Maxima, übrig.

Bei zunehmender Fermentmenge, constant bleibender Salicinmenge, wächst die Menge des bei der Temperatur des Maximums gespaltenen Salicins in arithmetischer Reihe, wenn die des Emulsins in geometrischer Reihe zunimmt.

Die Ordinate eines Maximums genau zu bestimmen, ist eine mühevolle Aufgabe. Die Zahl der uns zu Gebote stehenden Punkte ist zur sicheren Bestimmung dieser Ordinaten zu gering. Aus diesen Gründen soll die formulirte Gesetzmässigkeit mehr als eine noch zu prüfende Hypothese, nicht als eine festgestellte Thatsache hingestellt werden.

In unserem Falle wachsen die Fermentmengen in der geometrischen Reihe $3{,}9 \times 2^n$ mgr., die in Procenten ausgedrückten maximalen Mengen von gespaltenem Salicin wachsen

nach der arithmetischen Reihe $42 \times 10\%$. Die Resultate der Berechnung und die Beobachtung stimmen in unserem Falle genügend überein.

	n =	0	1	2	3	4	5
Fermentmenge. . . .	39×2^n mgr.	3,9	7,8	15,6	31,2	62,5	125
Ordinate des Maximums, berechnet.	42×10 n	42	52	62	72	82	92
Gefunden.	—	42	51	64	75	85	94

Vermehrt man die Menge von Emulsin über 125 mgr. in 100 cbcm., so hört die Giltigkeit der Regel auf; die Menge des im Endzustande zersetzten Salicins wächst nicht mehr nach unserer arithmetischen Reihe, sondern sehr viel langsamer. Die obere Grenze der Giltigkeit dieser Beziehung ist dieselbe Fermentconcentration, bei der die Menge des im Endzustande der Reaction unterhalb der Temperatur des Maximums Gespaltenen unabhängig von der Menge des Ferments wird. Wie es eine obere Giltigkeitsgrenze unserer Beziehung gibt, so existirt offenbar auch eine untere Grenze derselben. Eigenthümlich ist die Gestalt der Curve, die die Maxima der in den Endzuständen gespaltenen Mengen verbindet (siehe Tafel III). Diese Curve hat einen Wendepunkt. Wächst die Menge des Ferments, so steigt das Maximum der Einwirkung von niederer Temperatur auf höhere (A); dann bei weiterer Zunahme des Ferments tritt entweder keine Verschiebung der Maxima oder vielleicht eine geringe Verschiebung derselben von höheren zu niederen Temperaturen ein (B). Zuletzt bei weiterer Steigerung der Fermentmengen ändert die Curve ihre Richtung, um sich asymtotisch dem Werthe 100% zu nähern (C). Das heisst, auch bei ungeheurer Vermehrung des Ferments würde die Vollständigkeit der Fermentreaction doch nie erreichbar sein. Es soll nicht behauptet werden, dass ein grosses Stück des Curvenzweiges C realisirbar ist.

Interessant ist die Frage: ob es auch unter dem Gefrierpunkte des Wassers, also in unterkühlten Lösungen, noch

Maxima der Endzustände gibt? Bei fortgesetzter Abnahme des Ferments wird sich das Maximum auf dem Curvenzweige A verschieben. Wenn die Extrapolation erlaubt ist, wird der Curvenzweig A die Temperaturaxe etwa bis —10° schneiden. Diejenige Fermentconcentration, für die das Maximum des Endzustandes bis —10° liegt, wirkt überhaupt nicht, da ihr Maximum der Wirkung Null beträgt. Maxima der Endzustände sind auch unter der Temperatur 0° sehr wahrscheinlich realisirbar.

3. Die Maxima der Endzustände bei verschiedenen Temperaturen werden in erster Linie durch die Natur des Ferments, nicht durch die des sich spaltenden Stoffes bedingt.

Wir erkannten vorhin, dass die Maxima der Endzustände bei verschiedenen Temperaturen für grössere Fermentconcentrationen unabhängig von der Temperatur sind (Curvenzweig A). Nur auf dieses Concentrationsintervall des Ferments wird der obige Satz bezogen.

Herr Fischer liess dieselben Mengen, 62,5 mgr. Emulsin in 100 cbcm. auf gleiche moleculare Mengen von Salicin, Amygdalin, Coniferin und Arbutin wirken und fand im Endzustande der Reaction bei verschiedenen Temperaturen folgende procentische Mengen zersetzt:

	In 100 cbcm.	t = 0°	t = 12°	t = 30°	t = 46°	t = 60°
Salicin . . .	0,284 gr.	67,0	74,1	85,0	94,0	fast nichts
Amygdalin . .	0,456 »	17,4	37,5	61,5	85,0	53,0
Coniferin . .	0,377 »	40,0	40,6	41,3	43,5	41,7
Arbutin . . .	0,575 »	41,0	43,0	51,7	53,5	42,7

Tafel IV.

Aus der graphischen Darstellung geht hervor, dass, so verschiedenartig die verschiedenen Endzustandscurven auch sind, die Maxima der Endzustände doch merklich bei derselben Temperatur liegen.

Der Verlauf der Fermentreactionen.

Die Fermentreactionen gehören zu denjenigen Reactionen, die sich mit einer mittleren Geschwindigkeit vollziehen, so dass man im Stande ist, dieselben bequem zu verfolgen. Unter der Geschwindigkeit einer chemischen Reaction wird der Differentialquotient der Function, die die Menge des veränderten Stoffes in ihrer Abhängigkeit von der Zeit gibt, verstanden. Falls die Reactionsproducte auf die Geschwindigkeit der Reaction nicht von Einfluss sind, gilt folgende Gleichung[1]) für den Verlauf der Reaction, wenn nur einer der Stoffe sich während der Reaction verändert:

$$\frac{-dC}{dt} = kC,$$

wo C die Concentration, t die Zeit und k eine Constante bedeuten. Nach der Integration ergibt sich die Gleichung 1) $-\log. \text{nat.}\, C = kt + \text{Constante}$. Die Gleichung 1 ist giltig für eine Reihe von Reactionen, die auch durch Fermente hervorgerufen werden können, so für die Inversion des Rohrzuckers durch Säuren und andere Hydrolysen.

Da die Säuren und die Fermente als Beschleuniger hydrolytischer Processe betrachtet werden müssen, lag, bevor die Eigenthümlichkeiten der Fermentreactionen bekannt waren, die Vermuthung nahe, dass die Gleichung 1, die den Verlauf der Inversion des Rohrzuckers durch Säuren wiedergibt, denselben auch bei der Inversion durch Invertin genügend darstellt. Nach dem, was wir bis jetzt über die Fermentreactionen erfahren haben, scheint jene Vermuthung nicht begründet. Wir haben als einfache Umschreibung der Thatsachen drei verschiedene Reactionen, die während des Vorgangs, den man fermentative Spaltung nennt, sich alle mit sehr verschiedenen Geschwindigkeiten vollziehen, zu unterscheiden: 1. Die Reaction, die durch das Ferment beschleunigt wird, also die, nach der der spaltbare Stoff zerfällt. 2. Die Verwandlung des Ferments in eine unwirksame Modification durch die Producte der ersten

[1]) J. H. van t'Hoff, Etudes de dynamique chimique, Amsterdam 1884, S. 17.

Reaction. Die unwirksame Modification hat die Fähigkeit, sich in die wirksame zu verwandeln. Diese Reaction kommt hauptsächlich unter der Temperatur des Maximums der Endzustände in Betracht. 3. Zerfällt über der Temperatur des Maximums der Endzustände das Ferment in mehrere Stoffe, aus denen sich derselbe nicht mehr zurückbilden kann.

Aus diesen Gründen muss der Verlauf der Fermentreactionen sehr complicirt werden. Doch muss auch eine vorläufige Orientirung über die vorliegenden Verhältnisse in vielen Beziehungen lehrreich werden. Wir werden bei dieser Orientirung auf manche Thatsachen stossen, die wohl nur als Stützen der soeben gegebenen Anschauungen betrachtet werden können.

Nach vier verschiedenen Richtungen ist der Verlauf der Fermentreactionen zu verfolgen. Der Einfluss der Menge des Ferments, der des spaltbaren Stoffes, der der Temperatur und fremder Stoffe auf die Geschwindigkeit dieser Reactionen wäre zu untersuchen.

Einfluss der Menge des Ferments auf die Geschwindigkeit der Reactionen.

1. E. Brücke[1]) scheint der Erste gewesen zu sein, der den Einfluss der Fermentmenge auf die Geschwindigkeit einer Fermentreaction festgestellt hat. Er bestimmte die Zeiten, die Fibrinflocken zu ihrer Auflösung in einer mit Salzsäure versetzten Pepsinlösung bedürfen.

Pepsingehalt.	Auflösungszeiten.	
	Stunden.	Minuten.
1	15	45
2	12	20
4	7	15
8	3,5	10
16	3	—
32	1,5	—

[1]) E. Brücke, Wiener Sitzungsber.. Bd. 37, S. 131, 1859.

2. Nach Cohnheim's[1]) Angaben stehen die Zeiten, welche verschiedene Mengen Speichelferments zur Umwandlung gleicher Mengen Stärkekleister in Traubenzucker brauchten, in folgenden Verhältnissen:

Menge des Ferments	1	$^1/_2$	$^1/_4$	$^1/_8$	$^1/_{16}$	$^1/_{32}$	$^1/_{64}$
Zeiten, in denen gleiche Mengen Stärke verwandelt wurden	1	1,5	2,5	7,0	16	24	39.

3. A. Schwarzer[2]) bestimmte die Zeiten, nach denen ein Stärkekleister, der der Wirkung von Disstase bei 50° ausgesetzt war, mit Jodlösung keine Färbung gab.

Menge der Diastase	1	2	4	8	20
Zeit in Minuten, bis Jodlösung keine Färbung gab	160	65	40	30	20.

4. E. Marckwort und G. Hüfner[3]) bestimmten die durch verschiedene Emulsinmengen, welche sie in Glycerinlösung zu der 0,4 % Amygdalinlösung fügten, nach 15 Minuten zersetzten Amygdalinmengen. Die Fermentmenge 2 ist gleich 8 Tropfen der Lösung von Emulsin in Glycerin.

Emulsinmengen	2	4	6	8	10
Gespaltenes Amygdalin in Procenten des ursprünglich Vorhandenen	4,3	4,3	4,3	10,9	15,2.

5. M. Barth[4]) fand nach 30 Minuten bei 40° C. in je 100 cbcm. einer 5 % Rohrzuckerlösung nach Zusatz folgender Invertinmengen folgende Mengen von Invertzucker gebildet:

0,001 gr. Invertin	0,03 gr. Invertzucker.
0,0025 » »	0,05 » »
0,0050 » »	0,100 » »

In allen Fällen wächst die Geschwindigkeit der Fermentreactionen mit der Menge des zugesetzten Ferments. Strenge Proportionalität zwischen den in gleichen Zeiten zersetzten Substanzmengen und den hierbei betheiligten Fermentmengen scheint nicht einzutreffen. Für inhomogene Systeme, wie die

---

[1]) Cohnheim, Arch. f. pathol. Anat. von R. Virchow, Bd. 28, S. 246, 1863.

[2]) A. Schwarzer, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 1, S. 215, 1870.

[3]) E. Marckwort u. G. Hüfner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 11, S. 202, 1875.

[4]) M. Barth, Berl. Ber., 1878, S. 482.

von Brücke, Cohnheim und Schwarzer untersuchten, ist dieselbe auch gar nicht zu erwarten.

Die oben angeführten Versuche über die Geschwindigkeit der Fermentreactionen geben uns nur ein sehr unvollständiges Bild über den Verlauf derselben. Es ist daher wünschenswerth, ein vollständigeres, wenn auch nur für eine Reaction, zu gewinnen.

6. Verlauf der Reaction von Invertin auf Rohrzucker bei variablen Invertinmengen.

Die Invertinlösungen wurden alle durch Verdünnen ein und derselben Invertinlösung gewonnen und so mit den Rohrzuckerlösungen gemischt, dass alle Lösungen in 200 cbcm. dieselbe Menge Rohrzucker und die unten angegebenen Invertinmengen im Reactionsgemisch enthielten. Nach der Zeit ϑ in Minuten wurden im 2 dcm.-Rohr die in der Tabelle aufgeführten Drehungswinkel in Minuten beobachtet. Da die Invertinlösungen selbst eine geringe Drehung des polarisirten Strahls ausüben, so wurde diese Ablenkung von den beobachteten Winkeln subtrahirt. Wäre die Reaction vollständig gewesen, so hätte der schliesslich nach längerer Zeit beobachtete Drehungswinkel — 220 Min. betragen sollen. Die Reactionen gingen in Thermostaten bei 25° vor sich. Die Abnahme der Drehungswinkel ist proportional den gebildeten Invertzuckermengen.

Menge des Invertins:									
1. 0,920 gr.		2. 0,460 gr.		3. 0,230 gr.		4. 0,092 gr.		5. 0,046 gr.	
ϑ		ϑ		ϑ		ϑ		ϑ	
0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698
14	648	12	659	30	649	27	678	35	686
35	542	36	599	53	610	50	665	58	684
58	433	60	535	77	577	74	647	82	677
83	326	85	467	103	540	99	640	127	662
100	256	104	429	122	509	119	618	187	646
129	152	161	283	181	424	178	581	383	621
160	71	204	194	222	360	315	495	408	588
202	— 7	300	40	317	240	400	439	547	553
299	83	386	— 41	404	148	540	353	1409	302
384	110	523	107	541	— 12	1400	— 11	1559	206
522	113	—	—	3046	118	1551	41	3046	— 40
3046	130	—	—	—	—	3059	96	—	—

Menge des Invertins:									
6. 0,020 gr.		7. 0,010 gr.		8. 0,005 gr.		9. 0,002 gr.		10. 0,001 gr.	
ϑ		ϑ		ϑ		ϑ		ϑ	
0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698
120	698	46	698	67	698	67	698	175	698
993	636	173	696	173	698	174	698	998	691
1509	579	996	658	996	673	997	681	1504	689
2472	417	1510	625	1505	650	1505	669	2470	688
3079	263	2471	511	2468	595	2469	651	3077	627
3461	— 45	3081	435	3077	546	5437	567	5437	610
—	—	3458	118	3454	462	—	—	—	—

Tafel V.

Im Gegensatze zu anderen katalytischen Reactionen, deren Verlauf durch eine logarithmische Curve darstellbar ist, folgen die Fermentreactionen complicirteren Gesetzen. Die qualitativ identischen Reactionen der Säuren und des Invertins auf Rohrzucker sind betreffs ihres Verlaufs wesentlich verschieden. Der Uebersichtlichkeit wegen ist der Verlauf der Invertinreactionen graphisch dargestellt (Tafel V). Als Abscisse dienten die seit Beginn der Reaction verflossenen Zeiten, als Ordinaten die Drehungswinkel in Minuten, oder die vorhandenen Mengen des unzersetzten Stoffes.

Man bemerkt, dass, falls die Reaction unter Einfluss von grossen Mengen Ferment verläuft, der Gang der Reaction durch eine Curve, die der Abscisse die convexe Seite zukehrt, dargestellt wird. Nimmt die Menge des Ferments ab, so ändert sich die Gestalt der Curven und nähert sich der geraden Linie, um bei weiterer Verminderung der wirkenden Fermentmengen in Curven, die der Abscisse die concave Seite zuwenden, überzugehen.

7. Verlauf der Reaction zwischen Emulsin und Salicin bei wechselnden Emulsinmengen.

Die Reactionen gingen in Lösungen, die in 100 cbcm. je 2,145 gr. Salicin und Emulsinmengen, im Verhältniss von 1 : 5 : 10 : 25, enthielten, bei der Temperatur 25° vor sich. Unter ϑ sind die seit dem Beginn der Reaction verflossenen

Zeiten in Minuten und neben diesen die Abnahme der Drehungswinkel einer 2 dcm. langen Lösungsschicht in Minuten verzeichnet. Die Abnahme der Drehungswinkel ist nicht proportional der Menge des gespaltenen Salicins, weil Traubenzucker und Salicin gegenseitig ihre Drehung beeinflussen (siehe S. 297).

Emulsinmengen:							
1.		5.		10.		25.	
ϑ		ϑ		ϑ		ϑ	
19	5	19	8	21	29	23	62
45	14	45	65	—	—	48	124
—	—	59	79	60	125	62	138
80	24	80	107	80	156	82	149
—	—	101	128	101	164	102	160

Nach 60 Minuten ist die Reactionsgeschwindigkeit der verdünnten Emulsinlösung am geringsten, sie steigt mit der Concentration des Emulsins, um schliesslich bei grossen Emulsinmengen von der Menge des Emulsins fast unabhängig zu werden.

Einfluss der Menge des spaltbaren Stoffes auf den Verlauf der Fermentreactionen.

In dieser Richtung sind früher Versuche von Marckwort und Hüfner[1]) und von Barth[2]) angestellt worden.

1. Barth setzte zu je 100 cbcm. verschiedener Rohrzuckerlösungen 5 mgr. Invertin. Nach einer halben Stunde werden bei 40° C. folgende Mengen von Invertzucker gefunden:

Concentrationen der Rohrzuckerlösungen.	Gebildete Menge Invertzucker.	Relative Menge des gespaltenen Zuckers.
0,5 %	20 mgr.	40
1 »	43 »	43
2,5 »	65 »	26
5 »	100 »	20
7,5 »	100 »	13
10 »	104 »	10
15 »	104 »	7
20 »	83 »	4

[1]) Marckwort u. Hüfner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 11, S. 200, 1875.
[2]) Barth, Berl. Ber., 1878, S. 481.

2. Marckwort und Hüfner liessen bei 50° dieselben Mengen von Emulsin auf Lösungen von Amygdalin folgender Concentration wirken. Nach 15 Minuten waren folgende Mengen von Amygdalin in Procenten der ursprünglich vorhandenen Menge zersetzt. Leider enthielten ihre Lösungen ausserdem noch Glycerin.

Concentration des Amygdalins in Procenten:

0,09 0,08 0,07 0,06 0,05 0,04 0,03 0,02 0,01.

Zersetztes Amygdalin in Procenten des ursprünglich vorhandenen:

0,0 0,0 2,2 10,9 10,9 8,6 6,4 2,2 2,2.

3. Abhängigkeit des Verlaufs der Reaction zwischen Emulsin und Amygdalin von der Amygdalinmenge.

Fügt man zu drei Lösungen, die in je 500 cbcm. I. 2,555 gr., II. 5,110 gr. und III. 10,22 gr. Amygdalin enthalten, gleiche Mengen Emulsin, so findet man nach den Zeiten ϑ folgende Mengen Amygdalin in Grammen gespalten. Zur Bestimmung der zersetzten Amygdalinmengen wurde die gebildete Blausäure nach Volhard titrirt.

Menge des zersetzten Amygdalins:					
I. 2,555 gr.		II. 5,110 gr.		III. 10,22 gr.	
ϑ		ϑ		ϑ	
4	0,13	4	0,09	4	0,02
8	0,29	10	0,36		
13	0,57	14	0,61	15	0,54
18	0,76	19	0,85	19	0,73
23	0,79	24	1,01	24	0,89
				34	1,10

Die Anfangsgeschwindigkeiten nehmen mit wachsender Amygdalinmenge stark ab. Auf den späteren Verlauf der Reaction ist die Amygdalinmenge von geringem Einfluss: von den drei Curven, die den Verlauf der Reaction darstellen, decken sich I und II, und die Curve III verläuft obigen parallel. Also sind die Geschwindigkeiten, wenn wir von den Anfangsgeschwindigkeiten absehen, innerhalb der untersuchten Concentrationsgrenzen unabhängig von der Menge des Amygdalins.

4. Abhängigkeit des Verlaufs der Inversion von Rohrzucker durch Invertin von der Menge des Rohrzuckers.

Herr cand. chem. G. v. Szablowski fügte zu je 20 cbcm. folgender Rohrzuckermengen 2 cbcm. einer 26 mgr. enthaltenden Invertinlösung. Jene Rohrzuckerlösungen enthielten in 100 cbcm. I. 1 gr., II. 5 gr., III. 10 gr. Rohrzucker. Nach der Zeit ϑ in Minuten wurde die Abnahme der Drehungswinkel in Minuten im 22 cm. langen Rohr bestimmt.

ϑ	I.	II.	III.	IV.
60	14	0	0	0
600	26	78	160	180
1500	54	262	439	481

Auch hier tritt bei wachsender Rohrzuckermenge eine starke Verzögerung der Anfangsgeschwindigken der Reaction ein. Auf die dann folgenden Geschwindigkeiten übt die Menge des Rohrzuckers nur bis zu einer gewissen Concentration einen Einfluss aus.

Betreffs des Einflusses der Menge des der Fermentwirkung unterliegenden Stoffes auf die Geschwindigkeit der Reaction kann man einige allgemeine Regeln, die zur vorläufigen Orientirung genügen, aufstellen. Die Anfangsgeschwindigkeiten sind bei gleichbleibender Fermentmenge in verdünnten Lösungen grösser, als in concentrirten, in letzteren traten häufig sehr starke Verzögerungen des Beginns der Reaction ein. Wenn die Reaction sich fast zur Hälfte verzogen hat, so steigt mit der Concentration der Lösung die Geschwindigkeit der Reaction, wird aber bei einer gewissen Concentration fast unabhängig von der Concentration des zerfallenden Stoffes und fällt schliesslich bei weiterer Steigerung der Concentration ein wenig. In jedem der angeführten Beispiele wird man ein Stück der allgemeinen Regel bestätigt finden.

In gleichen Zeiten wird in verdünnten Lösungen procentisch mehr gespalten, als in concentrirteren.

Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Fermentreactionen.

Durch Berthelot's[1]) Bestimmungen der Geschwindigkeiten der Esterbildung wurde die altbekannte Thatsache, dass die Temperatur von grossem Einfluss auf die Geschwindigkeit chemischer Reactionen ist, in anschaulicher Weise illustrirt. Der Einfluss der Temperatur auf die Reactionsgeschwindigkeit ist ein ganz enormer. Reactionen, die bei gewöhnlicher Temperatur Jahre brauchen, um bis zum Gleichgewicht zu gelangen, erreichen dieses bei 200° in wenigen Stunden. Theoretisch und experimentell wurde der Einfluss der Temperatur auf das chemische Gleichgewicht und die Reactionsgeschwindigkeit von van t'Hoff[2]) behandelt. van t'Hoff hatte gezeigt, dass die Reactionsgeschwindigkeit eine Exponentialfunction der Temperatur sein müsse. Arrhenius[3]) hat darauf gezeigt, dass in der That eine Exponentialformel mit nur einer Constante, der eine bestimmte physikalische Bedeutung zukommt, die vorliegenden Beobachtungen über den fraglichen Einfluss genügend wiedergibt. Bedeuten ρ_1 und ρ_0 die Reactionsgeschwindigkeiten bei den absoluten Temperaturen T_1 und T_0, so ergibt die Gleichung:

$$\rho_1 = \rho_0 e^{A \frac{T_1 - T_0}{T_0 T_1}}$$

die Abhängigkeit der Reactionsgeschwindigkeit von der Temperatur. Die Constante A ist gleich der halben Wärmemenge in Calorien, welche frei wird, wenn ein Grammmolekül der sich umsetzenden Substanz zerfällt.

Der Einfluss der Temperatur auf die Reactionsgeschwindigkeit wird aber durch die Constante A bestimmt. Falls ein und derselbe Stoff unter dem Einfluss verschiedener anderer Stoffe, deren Menge sich während der Reaction nicht ändert, zerfällt, so folgt aus der Formel, dass für all' diese Reactionen der Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der

---

[1]) Berthelot, Ann. chim. et phys., Bd. 66, S. 116, 1862.
[2]) van t'Hoff, Etudes de dynamique chimique, Amsterdam 1885.
[3]) S. Arrhenius, Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. 4, S. 227, 1889.

Reaction derselbe bleiben muss. Da der Einfluss der Temperatur auf die Reactionsgeschwindigkeit nur von der Dissociationswärme des der Reaction unterliegenden Stoffes abhängt, so muss es offenbar gleichgiltig sein, durch welches Mittel die Reaction hervorgerufen wird, falls nur obiger Bedingung genügt ist.

In Uebereinstimmung mit Obigem ist durch die Untersuchungen von Wilhelmy[1]) und Spohr[2]) bekannt, dass der Temperatureinfluss auf die Reactionsgeschwindigkeit bei der Inversion des Rohrzuckers durch Säuren unabhängig von der Natur der Säuren ist. Wenn Invertin auf Rohrzucker ähnlich den Säuren wirkt, das heisst sich während der Reaction in keiner Weise verändert, so müsste sich aus den Reactionsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Temperaturen dieselbe Constante A, die den Einfluss der Temperatur auf die Reactionsgeschwindigkeit bei der Inversion durch Säuren regelt, ergeben. Diese Folgerung trifft nicht zu.

Wir werden sehen, dass die Formel von Arrhenius den Einfluss der Temperatur auf die Reactionsgeschwindigkeiten der Fermentreactionen nicht darstellt.

Die Gleichung von Arrhenius kann nur auf den Temperatureinfluss solcher Reactionen, die sich mit constanter Geschwindigkeit vollziehen, angewandt werden. Trifft diese Bedingung nicht ein, so müssen die Störungen der Reaction untersucht werden; mit Hilfe solcher Untersuchungen gelingt es dann in einigen Fällen, die normale constante Geschwindigkeit unter Eliminirung der Verzögerungen und Beschleunigungen zu bestimmen. In unserem Falle kann die Bestimmung der Geschwindigkeitsconstante nicht ausgeführt werden, da die Mittel zur Bestimmung der Menge des sich in die unwirksame Modification Verwandelnden fehlen. Trotzdem dürfte die Bestimmung des Temperatureinflusses auf die der Beobachtung zugänglichen Geschwindigkeiten, die als Differenzen zweier respective von drei verschiedenen Geschwindigkeiten aufzufassen sind, nicht ohne Interesse sein.

---

[1]) Wilhelmy, Pogg. Ann., Bd. 81, S. 413, 1850.

[2]) Spohr, Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. 2, S. 195, 1888.



Gewöhnlich wird die Anfangsgeschwindigkeit nicht normal verlaufender Reactionen diejenige sein, die von Beschleunigungen und Verzögerungen am wenigsten betroffen wird, weil beim Beginn der Reaction die störenden neugebildeten Producte in geringen Mengen vorhanden sind. Allerdings kennt man aber auch Reactionen, die gerade in ihrem anfänglichen Verlauf stark verzögert werden (Photochemische Induction, Auflösung von Metallen in Säuren).

Für drei Reactionen, der Wirkung von Invertin und Diastase auf Rohrzucker und der Wirkung des Emulsins auf Salicin bestimmte Herr v. Szablowski die Abhängigkeit der Reactionsgeschwindigkeiten von der Temperatur.

I. Invertin und Rohrzucker.

Das Invertin wurde nach den Angaben von Barth[1]) dargestellt. Der Hefenextract wurde mit Alkohol fractionirt gefällt, so dass die erste Fraction $^2/_3$ und die zweite $^1/_3$ des gesammten Niederschlags betrug. Gleiche Mengen der beiden Fractionen invertirten Rohrzuckerlösungen mit fast gleicher Geschwindigkeit. Es wurde daher zu den Versuchen ein Gemenge beider Fractionen benutzt.

Zu je 50 cbcm. enthaltend 5,5 gr. Rohrzucker wurden, nachdem sie die Temperatur des Thermostaten angenommen hatten, 5 cbcm. Lösung von der Temperatur 20°, enthaltend 0,116 gr. Invertin, zugefügt. Von Zeit zu Zeit wurde mit einem Theil des Reactionsgemisches eine 2 dcm. lange, auf die Temperatur des Thermostaten vorgewärmte Röhre gefüllt, und aus 5 Einstellungen der Drehungswinkel für die seit Beginn der Reaction verflossene Zeit ϑ interpolirt. Bei der Temperatur t° wurden nach der Zeit ϑ in Minuten die Drehungswinkel D in Minuten beobachtet. Unter Δ sind die Differenzen der ursprünglichen und der nach der Zeit ϑ beobachteten Drehungswinkel verzeichnet. Bei derselben Temperatur sind diese Drehungswinkel proportional den gebildeten Invertzuckermengen.

---

[1]) Barth, Berl. Ber., 1878, S. 481.

1. t = 0°			2. t = 21,0°			3. t = 30,1°			4. t = 39,8°			5. t = 50,2°			6. t = 60,5°		
ϑ	D	Δ	ϑ	D	Δ	ϑ	D	Δ	ϑ	D	Δ	ϑ	D	Δ	ϑ	D	Δ
0	813	—	0	813	—	0	813	—	0	813	—	0	813	—	0	813	—
20	806	7	32	785	28	30	772	41	30	744	69	29	777	36	20	772	41
72	800	13	60	734	79	60	693	120	60	658	155	50	741	62	52	759	54
120	788	25	90	686	127	90	621	192	90	568	245	85	692	121	93	756	57
155	784	29	120	641	172	110	576	237	120	482	331	115	647	166	148	738	75
—	—	—	153	589	224	135	514	299	145	423	390	150	596	217	170	735	78
—	—	—	—	—	—	150	482	321	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tafel VI.

II. Diastase und Rohrzucker.

Die Diastase wurde nach den Angaben von Lintner[1]) dargestellt. Zu je 40 cbcm. einer 4,5 gr. Rohrzucker enthaltenden Lösung wurden, nachdem diese Lösungen die Temperatur des Thermostaten angenommen hatten, je 5 cbcm. einer Lösung von 0,05 gr. Diastase von 20° C. gefügt. Nach der Zeit ϑ wurden 5 cbcm. der Reactionsgemische zu überschüssiger Fehling'scher Lösung gesetzt und die überschüssige Fehling'sche Lösung mit Invertzuckerlösung zurücktitrirt. Tabellirt wurden die Mengen gespaltenen Rohrzuckers in Milligrammen, die sich in je 5 cbcm. des Reactionsgemisches nach der Zeit in Minuten gebildet hatten.

t = 20,3°		t = 30,2°		t = 40,0°		t = 50,0°		t = 60,9°		t = 70,3°	
ϑ		ϑ		ϑ		ϑ		ϑ		ϑ	
30	0	30	0	30	0	30	1	30	0,5	35	3
60	0	60	0	60	0	60	2	60	1.5	130	3
95	0	80	1	220	5	185	7	110	3,5	255	2,5
1050	8	125	2	237	5	240	9	180	4,5	450	3
1090	8,5	257	3,5	365	8	300	11	285	7,5	1325	5,5
1410	11,5	435	6	495	11	360	13,5	390	10	—	—
1480	12	1265	30	1360	53	480	19	495	11	—	—
—	—	1500	40	—	—	1320	115	1385	29,5	—	—

Tafel VII.

[1]) Lintner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 34, S. 378, 1886.

III. Emulsin und Salicin.

Nachdem 40 cbcm. einer 1,2 gr. Salicin enthaltenden Lösung in Thermostaten vorgewärmt waren, wurden zu diesen 5 cbcm. einer 0,03 gr. Emulsin enthaltenden Lösung von 20° C. gefügt. Nach der Zeit ϑ wurde in 5 cbcm. des Reactionsgemisches die Menge des gebildeten Traubenzuckers in Milligrammen bestimmt und tabellirt.

t = 0°		t = 20,5°		t = 30°		t = 40,2°		t = 50,3°		t = 60,6°		t = 70,0°	
ϑ		ϑ		ϑ		ϑ		ϑ		ϑ		ϑ	
25	0,5	20	3	20	8	20	12	20	17,5	5	7	5	6,5
55	2,0	40	6	40	14	40	21	40	30	10	10,0	10	8
85	2,5	60	10	61	20,5	60	29	70	40	15	13,5	15	10
115	3,0	85	14	81	27	80	36	80	44,5	20	18	20	11,5
150	4,0	110	17	105	33	105	42	100	51	30	19	25	11,5
—	—	125	19	130	37,5	118	47	120	54,5	45	24	40	12
—	—	150	22,5	155	41,5	135	51,5	140	57	66	28,5	60	12,5
—	—	—	—	—	—	153	55,5	160	59,5	85	32	85	13
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	105	34	115	13,5
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	125	36	145	14
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	160	37.5	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	265	40,0	—	—

Tafel VIII.

Ueberblickt man die graphische Darstellung der Resultate, so bemerkt man, dass die Reaction zwischen Invertin und Rohrzucker (Tafel VI) wie die zwischen Diastase und Rohrzucker (Tafel VII) mit verzögerten Geschwindigkeiten beginnt; diese Verzögerung ist zwischen 21° und 40° sehr merkbar, bei 50° ist dieselbe nicht mehr wahrnehmbar. Die Reaction des Emulsins auf Salicin (Tafel VIII) beginnt mit grosser Anfangsgeschwindigkeit, die sich dann verzögert. Bis 50° wachsen die Anfangsgeschwindigkeiten für die Wirkung des Emulsins und Invertins mit der Temperatur. Die Anfangsgeschwindigkeit der Diastasewirkung wächst noch bei 70°. Ueber 50° vollziehen sich die Reactionen mit grosser Anfangsgeschwindigkeit, die sich rasch verzögert. Die Anfangs- als auch Mittelgeschwindigkeiten erreichen bei etwa

50° respective 70°, wahrscheinlich bei der Temperatur des Maximums der Endzustände, ein Maximum.

Wir haben hier eine auffallende Ausnahme vom Fundamentalgesetz über den Einfluss der Temperatur auf die Reactionsgeschwindigkeit zu verzeichnen. Doch ist dieselbe nur scheinbar. Die Geschwindigkeit des Zerfalles des der Wirkung unterliegenden Stoffes nimmt bei steigender Temperatur offenbar nicht ab, aber das die Spaltung verursachende Ferment zerfällt bei steigender Temperatur mit wachsender Geschwindigkeit.

In den Systemen, die den Endzustand unterhalb der Temperatur des Maximums erreichen, ist das Ferment noch wirkungsfähig, in anderen Systemen ist dasselbe zerstört. Weil das Ferment über der Temperatur des Maximums rasch zerfällt, vernichtet wird, darum besitzen auch die Geschwindigkeiten ein Temperatur-Maximum. Mit steigender Temperatur wächst die Geschwindigkeit der Reaction, nach der sich das Ferment spaltet, viel schneller als die der Fermentreaction. Bei 70—80° wird die Geschwindigkeit dieser Reaction so gross, dass das Ferment zum allergrössten Theil früher zerfallen ist, bevor es eine erhebliche Wirkung geäussert hat.

Obwohl für keine der untersuchten Reactionen eine Geschwindigkeitsconstante beobachtet werden kann, so kann doch für jede Reaction die Geschwindigkeit derselben zu einer gegebenen Zeit angegeben werden. Die Winkel, welche die Tangenten an die Geschwindigkeitscurven mit der Abscissenaxe bilden, sind proportional den Reactionsgeschwindigkeiten. Falls die Curven, wie beim Invertin und der Diastase, fast geradlinig verlaufen, gibt das Verhältniss von Ordinate zur Abscisse die Geschwindigkeit. Bestimmt man für die geradlinigen Curvenstücke verschiedener Temperatur die Ordinaten derselben Abscisse (ϑ), so sind diese proportional den Geschwindigkeiten nach der Zeit ϑ.

Für die Reaction der Diastase sind die Ordinaten für die Zeit $\vartheta = 500$ Minuten, für die Invertinreaction für die Zeit $\vartheta = 80$ Minuten entnommen. An die Geschwindigkeitscurven, die den Verlauf der Reaction zwischen Emulsin und

Salicin darstellen, sind Tangenten an die Curven im Anfangspunkte dieser gezogen und für die Zeit $\vartheta = 20$ die Ordinaten der Tangenten, die proportional den Anfangsgeschwindigkeiten sind, aus der Tafel entnommen.

Bei der Invertinreaction sind die Ordinaten bei verschiedenen Temperaturen noch nicht proportional den Geschwindigkeiten bei verschiedenen Temperaturen, da die specifische Drehung des Invertzuckers bei steigender Temperatur stark abnimmt. Dieselben brauchen nur mit dem Factor

$$\frac{0{,}833}{66{,}1 + (27{,}9 - 0{,}32\ t)}$$

multiplicirt zu werden, um bei verschiedenen Temperaturen die Menge des gebildeten Invertzuckers in Milligrammen zu erhalten.

Setzen wir den Werth der Geschwindigkeit für die Temperatur 0° (bei der Diastasereaction für t 20,3°) gleich der Einheit, so erhalten wir für:

Emulsin und Salicin.		Invertin und Rohrzucker.		Diastase und Rohrzucker.	
t°	Geschwindigkeiten.	t°	Geschwindigkeiten.	t°	Geschwindigkeiten.
0	1,0	0	1,0	20,3	1,0
20,5	2,3	21	6,2	30,2	2,1
30,0	5,8	30	9,4	40,0	3,2
40,2	8,8	40	12,6	50,0	5,8
50,3	15,8	50	16,8	60,9	3,6
60,6	13,3	60,5	2,9	70.3	1,0
70,0	12,3	—	—	—	—

Es folgen die Geschwindigkeiten der Inversion des Rohrzuckers durch Salicin nach den Bestimmungen von Urech[1]). Die Geschwindigkeitsconstante für 1° ist gleich der Einheit gesetzt.

t	Geschwindigkeiten.
1	1,0
10	5,0
20	23,0
30	98,9
40	335,8

[1]) Urech, Berl. Ber., 1884, S. 2175.

Auf der Tafel IX überblickt man den Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der untersuchten Reactionen, nebst dem auf die Geschwindigkeit der Inversion des Rohrzuckers durch Säuren. Der Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeiten der Fermentreationen ist aber sehr viel geringer, als der auf dieselben Reactionen, falls diese durch andere Ursachen veranlasst werden. Ferner sind vor allen anderen Reactionen die Fermentreactionen dadurch ausgezeichnet, dass ihre Geschwindigkeiten ein Temperaturmaximum besitzen, welches jenen fehlt.

Für die drei untersuchten Fälle liegen die drei Maxima sehr angenähert bei derselben Temperatur, es ist dieses Zusammentreffen durch die Concentration des Ferments bedingt. Wie die Temperaturmaxima der Endzustände von der Concentration des Ferments abhängig sind, bei abnehmender Concentration verschob sich das Maximum der Endzustände zu niedrigeren Temperaturen, so wird das Maximum der Geschwindigkeit sich bei abnehmender Fermentmenge in der gleichen Richtung verschieben.

Diese Verhältnisse sind zu berücksichtigen, wenn aus den Temperaturen der maximalen Geschwindigkeiten der Reaction, die zwei Fermente verschiedener Abkunft hervorrufen, bindende Schlüsse auf die Gleichartigkeit beider Fermente gezogen werden sollen.

Fick, Murisier[1]) und Hoppe-Seyler[2]) fanden, dass die salzsauren Extracte aus dem Magen von Kaltblütern bei 20°, die aus dem Magen von Warmblütern bei 40° das Maximum der Geschwindigkeit, mit der sie geronnenes Eiweiss lösen, besitzen. Der Unterschied in den Temperaturen des Maximums veranlasst die Verfasser zum Schluss, dass die eiweisslösenden Fermente im Magen der Warm- und Kaltblüter chemisch verschieden sind. Mit mehr Wahrscheinlichkeit dürfte geschlossen werden, dass die Fermentlösungen im Magen der Kaltblüter verdünnter sind, als im Magen der Warmblüter.

---

[1]) Fick u. Murisier, Verhandl. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg, Bd. 4, S. 120, 1873.

[2]) Hoppe-Seyler, Pflüger's Arch., Bd. 14, S. 395, 1877.

Der Verlauf der Fermentreactionen unter Einfluss fremder Stoffe.

Wie die Geschwindigkeit aller chemischen Reactionen durch Zusatz eines fremden Stoffes immer, wenn auch manchmal sehr wenig, beeinflusst wird, so werden auch die Fermentreactionen durch jeden Zusatz beeinflusst.

Es können drei Fälle unterschieden werden: 1. Der Zusatz wirkt nur verändernd auf das Lösungsmittel, in dem die Reaction vor sich geht. Die Folgen davon sind sehr geringe Beschleunigungen oder Verzögerungen der Reaction. 2. Der Zusatz führt das Ferment in die wirkungsfähige, aber unter den durch den Zusatz hervorgerufenen Bedingungen nicht wirkende Fermentmodification über. 3. Das Ferment zerfällt unter dem Einfluss des Zusatzes in andere Stoffe, aus denen es sich nicht wieder zurückbilden kann.

1. Beispiele für die erste Kategorie findet man in folgenden Beobachtungen: Lintner[1]) bestimmte die in einer Stunde durch Diastase veränderten Stärkemengen und fand, dass ein Zusatz von Chlornatrium, Chlorkalium und Chlorcalcium bis zu 0,5 % ohne Einfluss auf die Geschwindigkeit der Reaction ist, dass bei etwas grösseren Zusätzen die Reaction ein wenig beschleunigt wird.

Nach Cohnheim wirkt das Speichelferment am schnellsten in neutralen Lösungen, diese Wirkung wird wenig beeinträchtigt durch Zusatz geringer Mengen von Säuren, Ammoniak und Natriumcarbonat.

2. Zu denjenigen Stoffen, die die Fermente in ihre nicht wirksame, aber doch wirkungsfähige Modification überführen, gehören vor allen Dingen die Spaltungsproducte der Fermentreactionen. Ein Zusatz der Spaltungsproducte oder in vielen Fällen auch nur eines der Spaltungsproducte wird die Geschwindigkeit der Reaction immer verzögern. Es möge hier ein Beispiel für die Geschwindigkeitverzögerung durch Zusatz von einem der Spaltungsproducte folgen.

---

[1]) Lintner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 36, S. 487, 1887.

Gleiche Mengen Invertin wirkten bei 20° I. auf eine 5 % Rohrzuckerlösung, II. auf eine ebenfalls 5 % Rohrzuckerlösung, die ausserdem noch etwa 5 % Invertzucker enthielt. Unter I und II sind die nach der Zeit ϑ beobachteten Drehungswinkel im 2 dcm.-Rohr verzeichnet. Unter Δ finden sich die Differenzen der anfänglichen und der folgenden Drehungswinkel, aus denen man den stark verzögernden Einfluss des Zusatzes von Invertzucker ersieht.

ϑ	I.	Δ	II.	Δ
0	+ 400		+ 280	
360	+ 348	52	+ 255	25
1410	— 16	415	— 115	165
2835	— 123	523	— 7	287
5790	— 143	543	— 108	388

Ausser den Spaltungsproducten verändern noch andere Stoffe das Ferment, indem sie dasselbe in die unwirksame Modification überführen. V. Paschutin[1]) untersuchte die Wirkung des Speichelferments und der Diastase auf Stärke und fand, dass Schwefelsäure, die in concentrirteren Speichellösungen die Geschwindigkeit der Reaction sehr herabsetzt, in verdünnten Speichellösungen die Fermentation vollständig verhindert. Man braucht aber nur zu neutralisiren, so beginnt abermals die Wirkung. Dasselbe gilt für Einfluss des Alkalis.

3. Vermindert ein minimaler Zusatz gewisser Stoffe die Reactionsgeschwindigkeit sehr bedeutend und ein grösserer Zusatz verhindert die Reaction vollständig. In solcher Weise wirken freie Säuren, Basen und die Salze der schweren Metalle; diese Stoffe zerstören in vielen Fällen das Ferment vollständig.

Die ungeformten Fermente beschleunigen, wie die katalytisch wirkenden Säuren, hydrolytische Reactionen, unterscheiden sich aber von diesen in charakteristischer Weise.

[1]) V. Paschutin, Archiv f. Anatomie u. Physiologie. 1871, S. 304.

1. Die Säuren beschleunigen alle Hydrolysen, die Fermente nur wenige. Wird eine Hydrolyse von einer Säure beschleunigt, so wirken alle anderen Säuren ebenfalls beschleunigend. Die Wirkung, welche ein bestimmtes Ferment ausübt, vermag in der Regel andere Fermente nicht hervorzurufen.

2. Die Reactionen ungeformter Fermente sind im Gegensatz zu denen der Säuren unvollständig, weil das Ferment sich während der Reaction in eine nicht wirksame Modification umwandelt. Diese Umwandlung ist in der Regel früher vollendet, bevor die Fermentreaction vollendet ist.

3. Die Umwandlung der wirksamen Modification in die unwirksame, die Lähmung des Ferments, wird durch die Spaltungsproducte veranlasst, doch kommt nicht diesen ausschliesslich jene Eigenschaft zu. Die unwirksame Fermentmodification ist nur unter den Bedingungen des Endzustandes existenzfähig; werden diese verändert, so kann die Reaction weiter verlaufen. Erhöhung der Temperatur, Verdünnen oder Fortschaffung der Spaltungsproducte veranlassen die Rückbildung der wirksamen stabilen Modification aus der unwirksamen. Durch Erniedrigung der Temperatur, Concentrirung oder Vermehrung der Spaltungsproducte kann die Reaction nicht von Neuem in Gang gebracht werden.

4. Bei Temperaturen über der des Maximums der Endzustände macht sich in sehr merklicher Weise eine zweite Reaction, der das Ferment unterliegt, geltend. Diese ist im Gegensatz zu der Umwandlung des Ferments in seine labile Modification nicht umkehrbar.

Diese Sätze sind theils directe Ergebnisse, theils nur Umschreibungen experimenteller Resultate. Es bleibt für's Erste unentschieden, ob es allein mit Hilfe dieser Sätze und der Anwendung der Gesetze für den Verlauf nicht complicirter Katalysen, nach Ausführung der nöthigen Versuche, gelingen wird, die beiden Hauptprobleme, die Vorausberechnung der Endzustände und des Verlaufs der Fermentreactionen, zu lösen. Die Berechnung der Endzustände über

der Temperatur des Maximums dürfte am leichtesten ausführbar sein; schwieriger wäre die Vorausberechnung der Endzustände unterhalb der Temperatur des Maximums und am schwierigsten die Darstellung des Verlaufs der Fermentrecationen. Nach der Lösung dieses letzten Problems wäre die Theorie der Fermentreactionen als abgeschlossen zu betrachten.

Dorpat, im December 1891.

Zur Kenntniss des Adenins.

II. Mittheilung.

Von

Dr. Martin Krüger.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 30. December 1891.)

Vor einiger Zeit habe ich mitgetheilt[1]), dass Adenin bei der Spaltung durch Salzsäure unter Aufnahme von 8 Molekülen Wasser glatt zerlegt wird in 1 Mol. Glykokoll, 4 Mol. Ammoniak, 1 Mol. Kohlensäure und 2 Mol. Ameisensäure, und dass Hypoxanthin, welches nach Kossel dasselbe Radical Adenyl $C_5H_4N_4$, wie Adenin selbst, enthält und als Adenyloxyd aufzufassen ist, bei gleicher Behandlung auch dieselben Spaltungsproducte liefern muss, nur mit dem Unterschiede, dass in diesem Falle ein Molecül Ammoniak weniger entsteht.

Die Vergleichung der bei Hypoxanthin und der bei Harnsäure und Xanthin erhaltenen Resultate hatte ergeben, dass die Zerfallsproducte bei allen dreien die gleichen waren und dass nur ein Unterschied in dem Verhältniss von CO_2 zu HCOOH stattfand.

Dieses Verhältniss ist nämlich bei:

Harnsäure . .	3 Mol. CO_2	:	— Mol. CH_2O_2.
Xanthin . .	2 » »	:	1 » »
Hypoxanthin .	1 » »	:	2 » »

Die successive Zunahme der Ameisensäure und Abnahme der Kohlensäure findet ihre Erklärung in dem verschiedenen O-Gehalte der untersuchten Körper.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 160 etc.

Im Hinblick auf dieses vollkommen gleichartige Verhalten sämmtlicher Körper der Harnsäuregruppe gegen Salzsäure darf man vermuthen, dass Adenin und Hypoxanthin eine ähnliche Constitution wie Harnsäure und Xanthin besitzen. Die nächste Aufgabe der weiteren Untersuchung musste es daher sein, den für Harnsäure und Xanthin charakteristischen Alloxankern und Harnstoffkern auch im Adenin und Hypoxanthin nachzuweisen. Dieses Ziel auf dem von E. Fischer beim Caffeïn erprobten Wege zu erreichen, lag nahe; doch traten den in dieser Richtung von A. Kossel unternommenen Versuchen unerwartete Schwierigkeiten entgegen in Folge der grossen Widerstandsfähigkeit, welche Adenin gegenüber oxydirenden Mitteln zeigt.

Nach Kenntniss dieser Eigenschaften handelte es sich darum, weniger beständige Derivate des Adenins darzustellen. Ein solches Derivat ist das Bromadenin. Die Aufsuchung dieses Körpers wurde durch eine von Kossel gemachte Beobachtung[1]) veranlasst, nach der Adenin mit Bromwasser und HNO_3 behandelt einen sich mit Alkalien roth färbenden Rückstand hinterlässt, während Salpetersäure allein ohne Wirkung ist. Das von G. Bruhns im hiesigen Laboratorium in derselben Weise, wie Bromguanin, durch Digeriren von getrocknetem Adenin mit Brom dargestellte Bromadenin[2]) zeigte in der That die vermuthete Eigenschaft, mit Salpetersäure behandelt die Xanthinprobe zu geben.

Bromadenin.

Der beim Uebergiessen von trockenem Adenin mit Brom erhaltene dunkelrothe Körper ist nach Bruhns bromwasserstoffsaures Bromadenin-Tetrabromid $C_5H_4BrN_5 \cdot Br_4 \cdot HBr$; beim Erhitzen auf 110—120° geht er in ein Gemenge von Bromadenin und dessen bromwasserstoffsaurem Salz über.

Nach meinen Versuchen gelingt es nicht in allen Fällen, das Tetrabromid zu erhalten. So wurden z. B. 9,65 gr. bei

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 4.
[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 5.

120° getrocknetes Adenin mit so viel Brom in kleineren Portionen übergossen, dass das Gewicht des erhaltenen Productes 54,3 gr. ausmachte, verlangt sind für das Tetrabromid 45,5 gr. Trotzdem somit ein Ueberschuss von 9 gr. Brom vorhanden war, nahm dieses Product innerhalb 24 Stunden ab bis zu einem Gewichte von 28,3 gr., so dass ein Molekül Adenin im Ganzen etwas mehr als 3 Atome Brom festgehalten hatte.

Bei einem zweiten Versuche gaben 9,6 gr. Adenin 54,9 gr. Bromid, statt 43,7 gr. Tetrabromid; demnach war ein Ueberschuss von 11,2 gr. Brom vorhanden. Trotzdem nahm auch dieses Product innerhalb 24 Stunden ab bis zu einem Gewichte von 29,9 gr., so dass auf ein Molecül Adenin nur noch $3^1/_2$ Atome Brom vorhanden waren.

Die Schnelligkeit des Bromzusatzes hatte keinen merklichen Einfluss auf das Resultat; denn im ersten Versuche war das Brom in kleineren Portionen zugesetzt worden, so dass keine erhebliche Wärmeentwickelung eintrat. Bei dem zweiten Versuche wurde dagegen die ganze Menge des Broms in 2 grossen Portionen zugegeben, nach deren Zusatz jedesmal eine heftige Erwärmung und lebhaftes Sieden des Broms erfolgte.

In diesen beiden Versuchen war demnach kein Tetrabromid entstanden, und der ursprünglich erhaltene dunkelrothe Körper ist einfach als ein Gemenge von bromwasserstoffsaurem Bromadenin mit Brom anzusehen.

Für die Bildung des Tetrabromids scheint vielmehr die Grösse des Bromüberschusses massgebend zu sein. Hierfür spricht der folgende Versuch:

10,4 gr. getrocknetes Adenin wurden mit so viel Brom (in einzelnen Portionen zugesetzt) übergossen, dass die Menge des resultirenden Körpers 68,2 gr. betrug, statt 47,4 gr. Tetrabromid. Nach 15stündigem Stehen an der Luft hatte das Product 18 gr., d. h. fast alles überschüssige Brom verloren. Der so erhaltene Körper kann für das Tetrabromid angesehen werden. Er nahm bei längerem Liegen nur langsam an Gewicht ab und behielt durchgehends seine dunkelrothe Farbe

bei, nur die an den Wandungen der Schale fein vertheilten Massen waren hellgelb gefärbt, während bei den ersten beiden Präparaten die ganzen an der Oberfläche liegenden Mengen entfärbt und nur von dem dunkelrothen Körper unterschichtet waren.

Nach dem Trocknen der Präparate bei 130° wurden erhalten aus:

Versuch I	20,1 gr.;	verlangt sind 21,1 gr.	$HBr, C_5H_4BrN_5$.
» II	20,4 »	» » 20,9 »	»
» III	22 »	» » 22,7 »	»

Die Umwandlung des Adenins in $HBr, C_5H_4BrN_5$ ist auch nach diesen Versuchen eine fast quantitative. Die Entfärbung des rothen Additionsproductes kann nach Bruhns durch Natriumbisulfit oder durch Ammoniak bewirkt werden und das freie Bromadenin wird alsdann durch Versetzen mit Ammoniak bis zur neutralen Reaction ausgefällt.

Zur Darstellung des freien Bromadenins habe ich den rothen Körper durch Erhitzen auf 130° vollkommen von dem addirten Brom befreit, dann das restirende Product in Natronlauge unter Erwärmen gelöst und das Bromadenin durch Einleiten eines CO_2-Stromes gefällt. Es scheidet sich auf diese Weise in kugeligen Aggregaten aus kleinen mikroskopischen Nadeln bestehend aus. Aus seiner Lösung in Natronlauge kann es auch durch Neutralisation mit Essigsäure erhalten werden. Zur weiteren Reinigung wurde es mit schwach ammoniakalischem Wasser ausgekocht.

In dem Bromadenin kann das Bromatom weder durch die Amido-. noch durch die Hydroxylgruppe ersetzt werden (l. c.); selbst beim Erwärmen des Bromadenins mit Natriumalkoholat in Alkohol auf 145° während mehrerer Stunden findet keine Umsetzung statt.

Trockenes Chlorgas über getrocknetes Bremadenin in der Wärme geleitet ist ohne Wirkung. Es traten weder Bromdämpfe auf, noch zeigte das Gewicht der angewandten Substanz eine Veränderung. Wurde jedoch das Bromadenin mit Wasser übergossen und unter Erwärmen mit dem Einleiten des Chlors fortgefahren, so trat schon nach kurzer Zeit eine

reiche Entwickelung von Bromdämpfen ein und das Bromadenin ging bis auf einen geringen Rückstand in Lösung. Beim Verdunsten der Lösung nahm der Rückstand mit Kalilauge befeuchtet intensiv violettrothe Farbe an, Barytwasser erzeugt einen blaugrünen Niederschlag.

Spaltung des Bromadenins durch Salzsäure und chlorsaures Kali.

Aus dem Verhalten des Bromadenins gegen gasförmiges Chlor und gegen Salpetersäure ergibt sich, dass Adenin durch Einführung eines Bromatoms seine Widerstandsfähigkeit gegen oxydirende Mittel verloren hat. Man darf daher vermuthen, durch Oxydation des Bromadenins Spaltungsproducte zu erhalten, welche aus dem Adenin nicht gewonnen werden konnten und die über die Constitution des Adenins selbst näheren Aufschluss geben können.

Die in dieser Richtung angestellten Versuche haben in der That zu einem Resultate geführt, über welches im Folgenden berichtet werden soll. Als Oxydationsmittel wählte ich das Gemenge von Salzsäure und Kaliumchlorat, welches nach E. Fischer wenigstens beim Caffeïn bessere Resultate liefert als gasförmiges Chlor. Die Ausführung der Versuche geschah in der von dem genannten Forscher[1]) beschriebenen Weise.

17 gr. Bromadenin wurden mit 25 cbcm. conc. Salzsäure und 45 cbcm. Wasser auf 50—60° erwärmt und in das auf dieser Temperatur gehaltene Gemisch allmälig 10 gr. Kaliumchlorat eingetragen. Schon nach kurzer Zeit entwichen aus dem sich roth färbenden Gemisch Bromdämpfe in reichlicher Menge. Das Bromadenin schien sich allmälig zu lösen, das Gemisch wurde leichter beweglich, doch trat eine klare Lösung nicht ein; es blieb ein rother, sehr voluminöser, anscheinend amorpher Rückstand. Nach dem Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser wurde zunächst ein starker Luftstrom durch die Flüssigkeit getrieben und filtrirt. Im Rückstande befand sich der erwähnte fleischfarbene Körper, welches zunächst mit verd. Salzsäure, dann mit Wasser vollkommen ausgewaschen wurde.

---

[1]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 215, S. 258.

Es schmilzt bei 198° (uncorr.). Die Analyse ergab:

0,1965 gr. Subst. gaben 0,2025 gr. CO_2 und 0,0692 gr. H_2O.
0,1433 gr. Subst. gaben 0,1487 gr. CO_2 und 0,0539 gr. H_2O.
0,1245 gr. Subst. gaben 32,8 cbcm. N bei 20,1° C. und 752,5 mm.

Gefunden:	
28,11 % C.	28,30 % C.
3,91 » H.	4,18 » H.
29,81 » N.	—

Der Körper ist nur wenig löslich in verd. heissen Säuren und in Eisessig, leicht löslich in Alkalien mit purpurrother Farbe, welche beim Erwärmen nicht verschwindet. Aus diesen Lösungen fällt der Körper beim Ansäuren anscheinend unverändert wieder aus. In den alkalischen Lösungen desselben erzeugt Barytwasser einen schmutzig blauen Niederschlag. Die Verbindung entsteht bei der Oxydation des Bromadenins nur in geringer Menge (erhalten waren 1,03 gr.), so dass eine nähere Untersuchung derselben ausgeschlossen ist.

In die von dem eben beschriebenen Körper abfiltrirte Flüssigkeit wurde Schwefelwasserstoffgas bis zur Sättigung eingeleitet, um die letzten Mengen des Chlors zu beseitigen und etwa vorhandenes Alloxan als schwer lösliches Alloxantin abzuscheiden. Hierbei trübte sich die Flüssigkeit zwar stark, setzte aber erst nach längerem Stehen einen anscheinend nur aus Schwefel bestehenden Niederschlag ab. Als derselbe jedoch auf dem Filter getrocknet wurde, nahm das Filter selbst intensiv purpurrothe Farbe an und in dem Niederschlage zeigten sich stark glänzende, gleichfalls intensiv gefärbte Krystalle. Das Filter wurde daher mit heissem Wasser ausgekocht; beim Erkalten des Filtrates schieden sich schon nach kurzer Zeit kleine, glasglänzende prismatische Krystalle ab, in einer Menge von 1 gr.

Zur Analyse wurde die Substanz über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet:

In 0,2575 gr. der Substanz wurde eine N-Bestimmung nach der Kjeldahl'schen Methode gemacht. Verbraucht wurden zur Neutralisation des alkalischen Destillates 31,86 cbcm. $^1/_{10}$-N.-Oxalsäure = 0,0446 gr. N.

Verlangt für $C_8H_4N_4O_7 + 3\,H_2O$:	Gefunden:
17,39 % N.	17,32 % N.

Die wässerige Lösung des Körpers gibt mit Barytwasser einen veilchenblauen Niederschlag, reducirt Silbernitratlösung sofort und färbt sich endlich mit Ferrosulfat und Ammoniak intensiv indigblau, eine Reaction, die meines Wissens bisher nur für Alloxan, Dimethylalloxan und Amalinsäure bekannt ist. Doch habe ich mich überzeugt, dass auch aus Harnsäure hergestelltes Alloxantin dieselbe Reaction gibt.

In dem Filtrate vom Schwefel und Alloxantinniederschlage wurde die Hauptmenge der freien Salzsäure durch Bleicarbonat abgestumpft und der Rest durch Natriumcarbonat neutralisirt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltrirt und das Filtrat im Vacuum destillirt. Der Rückstand wurde alsdann mehrmals nach Digeriren mit wenig Wasser mit Alkohol in der Wärme extrahirt.

Das alkoholische Filtrat wurde dann weiter auf Harnstoff, die gesammten bleihaltigen Niederschläge auf Oxalsäure untersucht.

Zur Isolirung der Oxalsäure wurden die bleihaltigen Rückstände mit verd. Salzsäure behandelt, aus dem Filtrate nach Neutralisation mit Natriumcarbonat das restirende Blei durch Schwefelwasserstoff entfernt und die Oxalsäure in essigsaurer Lösung durch Calciumchlorid gefällt. Das mit heissem Wasser gewaschene Oxalat wurde in Salzsäure gelöst und nochmals durch Versetzen mit Ammonacetat gefällt.

1,3029 gr. des bei 110° getrockneten Oxalates wurden mit Sodalösung in der Wärme zersetzt; gefunden wurden 0,888 gr. $CaCO_3$.

Berechnet für $CaC_2O_4 + H_2O$:	Gefunden:
27,39 % Ca.	27,26 % Ca.

Das Filtrat vom $CaCO_3$-Niederschlage wurde nach Neutralisation mit Salpetersäure mit Silbernitrat versetzt und das erhaltene Silberoxalat mit kaltem Wasser vollständig ausgewaschen.

0,7946 gr. des an der Luft getrockneten Oxalats gaben 0,7467 gr. AgCl.

Berechnet für $C_2O_4Ag_2$:	Gefunden:
71,05 % Ag.	70,72 % Ag.

Die alkoholische Lösung, welche auf Harnstoff untersucht werden sollte, wurde zur Trockne verdunstet und der Rück-

stand nochmals mit Alkohol abs. extrahirt. Die nach dem Verdunsten des Alkohols zurückbleibende syrupöse Flüssigkeit wurde mit wenig Wasser übergossen und mit conc. ausgekochter und in Eis gekühlter Salpetersäure versetzt. Der sich ausscheidende Krystallbrei, dessen Menge 4,1 gr. betrug, wurde abfiltrirt und mit eiskaltem Alkohol gewaschen. Da beim Neukrystallisiren der Verbindung aus Alkohol nicht die für salpetersauren Harnstoff charakteristischen Krystalle erhalten werden konnten, so behandelte ich in der Meinung, dass der Grund hierfür in einer Beimengung von Guanidinnitrat zu suchen sei, die wässerige Lösung der Substanz mit überschüssigem Barytwasser in der Wärme, entfernte den Baryt durch Kohlensäure und entzog dem nach dem Eindunsten des Filtrates bleibenden Rückstand den Harnstoff durch Alkohol abs. Nach dem Verjagen des Alkohols krystallisirte Harnstoff in langen, säulenförmigen Krystallen aus; doch auch jetzt waren auf Zusatz von Salpetersäure nicht die Krystalle des Harnstoff-Nitrates zu erhalten, vielmehr schieden sich stets nur skelettförmige blättrige Krystalle aus.

Zur weiteren Reinigung wurde die Verbindung in wenig Wasser gelöst und mit heisser 10procentiger Oxalsäurelösung versetzt. Nach dem Erkalten scheiden sich glasglänzende, harte, aus Blättchen bestehende Krystalldrusen ab.

Die Analyse des Oxalates ergab folgende Werthe:

1. 0,2976 gr. Substanz gaben 0,2521 gr. CO_2 und 0,1314 gr. H_2O.
2. 0,2456 gr. Substanz wurden nach der Kjeldahl'schen Methode behandelt; verbraucht für das Destillat 47,07 cbcm. $^1/_{10}$-N.-Oxalsäure = 0,0659 gr. N.
3. In 0,3394 gr. Substanz wurde die Oxalsäure mit Permanganatlösung titrirt (20 cbcm. $^1/_{10}$-N.-Oxalsäure = 16,4 cbcm. $KMnO_4$). Verbraucht wurden 26,66 cbcm. $KMnO_4$-Lösung = 0,1463 gr. $C_2O_4H_2$.
4. 0,3516 gr. Substanz wurden in derselben Weise behandelt; verbraucht 27,6 cbcm. $KMnO_4$-Lösung = 0,1515 $C_2O_4H_2$.

Berechnet für $(CON_2H_4)_2 \cdot C_2O_4H_2$:	Gefunden:
22,86 % C.	23,10 % C.
4,76 » H.	4,91 » H.
26,67 » N.	26.83 » N.
42,86 » $C_2O_4H_2$.	43,11; 43,09 % $C_2O_4H_2$.

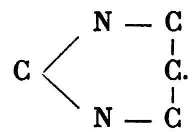
Die Analyse des Oxalates lässt wohl keinen Zweifel an der Identität der erhaltenen Verbindung mit dem oxalsauren Harnstoff zu.

Nach den mitgetheilten Ergebnissen wird Bromadenin unter der Einwirkung von Salzsäure und Kaliumchlorat gespalten in:

Alloxan, Harnstoff, Oxalsäure und einen Körper von säureartigem Charakter, über dessen Constitution nichts angegeben werden kann.

Bei einem zweiten Versuch, welcher in der Absicht angestellt war, eine bessere Ausbeute an Alloxan (resp. Alloxantin) zu erzielen, wurden 20,6 gr. Bromadenin mit 60 cbcm. conc. HCl und der gleichen Menge Wassers versetzt, alsdann bei 50—60° allmälig mit 8 gr. $KClO_3$ oxydirt. Der Versuch ergab nicht das gewünschte Resultat; vielmehr konnte diesmal kein Alloxan nachgewiesen werden, während Harnstoff und die übrigen Zersetzungsproducte in der eben angegebenen Weise isolirt werden konnten.

Dieser Versuch, bei welchem bedeutend grössere Mengen an Salzsäure angewendet wurden, vermag nicht das Resultat des ersten aufzuheben; er beweist nur, dass für die Bildung des Alloxans aus Bromadenin bestimmte Versuchsbedingungen innegehalten werden müssen. Die Bedingungen zu ermitteln, unter welchen die Ausbeute an Alloxan die bestmögliche ist, kann nicht die Aufgabe der vorliegenden Untersuchung sein; es genügt für unseren Zweck die Entstehung von Alloxan aus Bromadenin, wenn auch nur durch einen Versuch bewiesen und damit gezeigt zu haben, dass ebenso, wie in Harnsäure und Xanthin, auch im Adenin und Hypoxanthin ein Alloxankern vorhanden ist, d. h. der Atomcomplex.



Viel wichtiger scheint mir der Umstand, dass fast dieselben Versuchsbedingungen, unter welchen beim Caffeïn eine so glatte Spaltung erzielt wird, hier beim Adenin eine so

schlechte Ausbeute wenigstens an Alloxan ergeben. Beim Caffeïn wurden 60 % der theoretischen Ausbeute an Dimethylalloxan und Methylharnstoff erhalten, beim Adenin nur 8 % an Alloxan und 42 % an Harnstoff. Man könnte die Ursache dieser Erscheinung in einer principiellen Verschiedenheit des Alloxankerns im Caffeïn-, resp. Xanthin-Molekül und desjenigen im Adenin-, resp. Hypoxanthin-Molekül suchen, welche ihren Ausdruck in einer verschiedenen Vertheilung der Valenzen der entsprechenden N- und C-Atome fände. Es lässt sich leicht einsehen, dass ein so veränderter Alloxankern schwieriger Alloxan bei der Oxydation geben wird.

Was das Vorkommen von Oxalsäure unter den Spaltungsproducten des Bromadenins betrifft, so entsteht dieselbe wohl zweifellos aus dem Alloxankern, und vermuthlich bilden hier dieselben C-Atome Oxalsäure, welche wir bei der Spaltung des Adenins durch Salzsäure im Glykokoll wiederfinden.

Für die Entstehung des Harnstoffs aus Bromadenin sind zwei Erklärungen möglich: Entweder ist in dem Adeninmolekül neben dem Alloxankern noch ein Harnstoffkern vorhanden, oder der Harnstoff ist durch Spaltung des Alloxankerns entstanden. Ist das letztere der Fall, so würde damit die geringe Ausbeute an Alloxan bei der Oxydation des Bromadenins erklärt sein. Dem widersprechen jedoch die von E. Fischer beim Caffeïn erhaltenen Resultate, nach denen Dimethylalloxan und Methylharnstoff eine gleiche Beständigkeit gegen Salzsäure bei Anwesenheit von Kaliumchlorat zeigen. Es liegt kein Grund vor, beim Alloxan und Harnstoff ein anderes Verhalten diesen Reagentien gegenüber anzunehmen. Ich halte daher die erste Erklärung, nämlich das gleichzeitige Vorkommen eines Alloxan- und Harnstoffkernes im Adenin, für wahrscheinlicher und sehe den Grund für die geringe Ausbeute an Alloxan nicht in weiterer Zersetzung des einmal gebildeten Alloxans, sondern in einer geringeren Entstehung desselben, welche durch die oben angedeutete Valenzverschiebung im Alloxankern verursacht ist.

Die Entscheidung der Frage nach dem gleichzeitigen Vorkommen eines Harnstoff- und Alloxankerns im Adenin ist

auf zweierlei Weise möglich: Einmal durch quantitative Bestimmung der Zersetzungsproducte, des Alloxans und des Harnstoffes, welches Verfahren E. Fischer beim Caffeïn eingeschlagen hat; das andre Mal durch Einführung von Alkylen in das Adeninmolekül und Spaltung der so erhaltenen substituirten Adenine. Der erstere Weg scheint nach den bisher gemachten üblen Erfahrungen aussichtslos zu sein; ob der zweite auf bequeme Weise zu einem entscheidenden Resultate führen wird, müssen weitere Versuche, mit denen ich augenblicklich beschäftigt bin, ergeben.

Untersuchungen über lösliche Fermente.

Von

Dr. John Jacobson.

(Zum Theil als Dissertation erschienen.)

(Der Redaction zugegangen am 7. Januar 1892.)

Die Fähigkeit der wasserlöslichen Fermente, Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen, ist in den grundlegenden Arbeiten Schönbein's[1]) über diese Körperklasse gewissermassen als Reaction der Fermente angesprochen. Die Arbeiten aber, welche seither über Fermente erschienen sind, beschäftigen sich sämmtlich[2]) unter Vernachlässigung der Wasserstoffsuperoxyd zerlegenden Fähigkeit mit der specifischen Fermentwirkung, wohl weil die Autoren nach Vorgang Schönbein's annehmen, dass beide Kräfte parallel verlaufen und verschwinden. Letzterer spricht in einer seiner Abhandlungen über Fermente[3]) geradezu den Satz aus:

> Die Erfahrung lehrt, dass keinem der bekannten Fermente das Vermögen fehlt, nach Art des Platins Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen, und es ist Thatsache, dass der Verlust ihres Vermögens, Gährungen zu erregen, auch denjenigen ihrer Fähigkeit nach sich zieht, Wasserstoffsuperoxyd zu katalysiren, so dürfen wir aus dem Zusammengehen und Verschwinden dieser Wirksamkeiten wohl schliessen, dass beide von der gleichen Ursache herrühren, ... worin dieser Grund auch immer liegen mag.

Es erschien nun der Mühe werth, diesen Satz auf seine Richtigkeit hin zu prüfen, zumal er sich nur auf die Erfahrung und nicht auf zuverlässige Experimente stützt.

---

[1]) Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 75 u. ff.

[2]) O. Nasse macht hiervon eine Ausnahme, indem er angibt, bei einer Reihe von Stoffen eine Beeinflussung der H_2O_2 zerlegenden Fähigkeit der Fermente in günstigem und ungünstigem Sinne constatirt zu haben. Pflüg. Arch., Bd. 11.

[3]) L. c., Bd. 89, S. 334.

Durch vielfache Versuche sind für die Fermente die Temperaturen, bei welchen sie aufhören, Fermentwirkungen zu äussern, die sogenannten Tödtungstemperaturen, bekannt geworden. Ueber Schwächung und Tödtung der Fähigkeit der Fermente, Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen, sind Daten[1]) — soweit mir bekannt — nicht veröffentlicht worden, wohl weil man bisher der Meinung war, dass gleiche Temperaturgrade auf die beiden Fermentwirkungen, die specifische und die Wasserstoffsuperoxyd zerlegende Kraft in gleicher Weise einwirken.

Um nun zu ergründen, ob die Tödtungstemperaturen für beide Kräfte dieselben seien, und um bei verschiedenem Verhalten der beiden Kräfte gegen Hitzegrade die Tödtungstemperatur für die Wasserstoffsuperoxyd zerlegende Kraft zu ermitteln, wurden eine Reihe von Versuchen angestellt[2]).

Versuchsreihe A[3]).

50 cbcm. Mandelemulsion[4]) wurden im verschlossenen Kölbchen mit je 2 gr. Amygdalin der Reihe nach im Wasserbade auf 51°, 57°, 60°, 63°, 69° und 72° erhitzt. Nach einer Stunde wurden die Kölbchen herausgenommen und in ein zweites Wasserbad eingetaucht, welches die für Emulsin

---

[1]) Schönbein gibt, l. c., S. 325, ganz allgemein für Emulsin, Myrosin und Hefe die Siedehitze an.

[2]) Zu den Versuchen wurden besonders Emulsin und das in H_2O lösliche Fermentgemisch der Bauchspeicheldrüse benutzt. Auch Diastaselösung wurde bei einigen Versuchen geprüft. Auf Ausdehnung der Versuche auf Lösungen von Pepsin, Ptyalin und Myrosin wurde verzichtet, da diese Fermente nur geringe Quantitäten H_2O_2 zu zersetzen vermögen.

So spalten		
	Auszüge der Magenschleimhaut .	17,2 %
	Auszüge von Senfsamen. . . .	2,0 %
	Gemischter Speichel	26,2 %

des abspaltbaren Sauerstoffs ab.

[3]) Alle Versuche, welche mit Emulsin angestellt wurden, erhielten die Bezeichnung A und fortlaufende Ziffern, die Versuche mit Pancreasfermenten die Bezeichnung B, mit Diastase die Bezeichnung C.

[4]) Bereitung der Emulsinlösung: Sorgfältig ausgesuchte, durch Abbeissen von den bittern getrennte Mandeln wurden mit dem 4fachen Gewicht H_2O zerquetscht. Nach einstündigem Stehen wurde filtrirt und die Emulsion frisch, d. h. am selben Tage, verbraucht.

optimale Temperatur von 40° besass. Nach 48 Stunden[1]) wurde Schwefelsäure hinzugefügt und destillirt. Die gebildete Blausäure wurde im Destillat titrirt[2]) und dabei gefunden, dass beim Erhitzen auf 69° im Durchschnitt noch 90,84 °/₀ des zugefügten Amygdalins, beim Erhitzen auf 72° im Durchschnitt 41,056 °/₀ zersetzt war.

Parallel mit diesen Versuchen wurden je 25 cbcm. derselben Emulsinlösung mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und ebenfalls eine Stunde den gleichen Temperaturgraden ausgesetzt.

Nach völligem Erkalten wurden 25 cbcm. Wasserstoffsuperoxydlösung zu jedem Kolben hinzugefügt. Der entweichende Sauerstoff wurde in graduirten Glasröhren aufgefangen.

Es zeigte sich nun, dass nach vorhergehendem Erhitzen auf 69° im Mittel 16,5 cbcm. O = 9,525 °/₀ des zersetzbaren Sauerstoffs aufgefangen werden konnten, dagegen war in beiden Kolben, welche auf 72° erhitzt worden waren, eine Sauerstoffentwickelung nicht mehr vorhanden. Nachstehende kleine Tabelle erleichtert die Uebersicht.

	Emulsion	
	+ Amygdalin.	+ Wasserstoffsuperoxyd.
Erhitzt auf 69° . .	89,7 °/₀ (A 17)	17 cbcm. O = 9,8 °/₀ (A 29)
» » 69° . .	91,98 » (A 18)	16 » » = 9,27 » (A 30)
» » 72° . .	40,8 » (A 19)	0 » » = » (A 31)
» » 72° . .	41,3 » (A 20)	0 » » = » (A 32)

Aus diesen Versuchen ist also ersichtlich, dass beim Erhitzen der wässrigen Emulsinlösung auf 69° sich nur eine geringe Schwächung der specifischen Fermentwirkung zu erkennen gibt, während die Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd-

[1]) Es empfiehlt sich, die Einwirkung von Emulsin auf Amygdalin 48 Stunden dauern zu lassen, da in kürzerer Zeit viel weniger zersetzt ist. Es fanden sich bei 24stündiger Einwirkung (Versuch A 1) nur 40,88 °/₀ zersetzt.

[2]) Das Erwärmen auf die angeführten Temperaturen geschah stets in zwei Portionen, die eine Portion wurde mit Silbernitrat, die zweite mit Rhodanammonium auf Blausäure titrirt. Portion 1 auf 60° erhitzt (A 17) ergab 89,7 °/₀ der berechneten Menge HCN, Portion 2 (A 18) 91,98 °/₀, also im Mittel 90,84 °/₀ zersetztes Amygdalin.

lösung zu katalysiren, bereits um $^{9}/_{10}$ gesunken ist. Wird die Erhitzung der Emulsinlösung auf 72° gesteigert, so sinkt die specifische Fermentwirkung um die Hälfte, die Wasserstoffsuperoxyd zerlegende Kraft wird aber gänzlich vernichtet[1]).

Demnach ist die Tödtungstemperatur für die Sauerstoff entbindende Kraft der wässrigen Emulsinlösung[2]) zwischen 70 und 72° zu suchen.

In welcher Weise nicht erhitzte Emulsinlösung Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen vermag, zeigt Versuch A 38, Tabelle 1.

Versuchsreihe B.

10 cbcm. eines Pancreasauszuges[3]) wurden im Kölbchen auf 53°, 55°, 57°, 60° und 62°[4]) eine Stunde lang erhitzt.

---

[1]) Markwordt und Hüfner geben im Journ. f. pr. Ch., Bd. 119, S. 194, an, dass eine Lösung von Emulsin in Glycerin bei 60° eine Schwächung, bei 90° Tödtung der specifischen Fermentwirkung erleidet.

[2]) Spätere Versuche (A 120 und ff.) ergaben dieselben Temperatur grade auch für eine Glycerinlösung des Emulsins.

[3]) Gewinnung des Pancreasauszuges: Die Bauchspeicheldrüse eines frisch geschlachteten Schweines wurde sorgfältig von Fett und Bindegewebe befreit und die isolirte Drüsensubstanz mit grobem Glaspulver zerstossen. Nach Zusatz des doppelten Gewichts Wasser wurde ein klares Filtrat gewonnen.

Es sei hier der Ort, ein Verfahren anzugeben, welches ermöglicht, geringe Quantitäten des Pancreasauszuges schnell und bequem herzustellen. Da die Versuche mit den Fermentlösungen längere Zeit in Anspruch nahmen und der Pancreausauszug schon in kurzer Zeit in Fäulniss überging, so erschien es wünschenswerth, statt des mühsamen Zerstossens der frischen Drüse ein anderes Verfahren zur bequemen Anfertigung des Auszuges zu ermitteln. Zu diesem Zwecke wurde die möglichst isolirte Drüsensubstanz in dünne Scheiben zerschnitten und an einem trockenen, luftigen Ort während 3—4 Tagen getrocknet. Dann kamen die lufttrockenen Scheiben für 24 Stunden in ein Luftbad von 36—38°. Die dann völlig getrockneten Scheiben wurden im Wasser zerrieben und durch ein feines Drahtsieb von dem breit gestossenen Fett und Bindegewebe getrennt. Das gewonnene Pulver ist gut haltbar und erlaubt, in jeder beliebigen Menge durch einfaches Lösen in Wasser und Filtriren einen Auszug zu bereiten, welcher dem aus frischer Drüse bereiteten in Nichts nachsteht.

Die unter B 13 und ff. angeführten Versuche sind mit einer auf diese Weise erhaltenen Pancreaslösung angestellt, während bei Versuch B 1—12 ein Auszug aus der frischen Drüse benutzt wurde.

[4]) Versuch B 3—12.

Beim Erhitzen auf 60° war im Kolbeninhalt schon eine starke Trübung, beim Erhitzen auf 62° eine flockige Eiweissausscheidung aufgetreten. Nach dem Filtriren gab der Inhalt der Kolben mit Stärkelösung versetzt nach kurzem Stehen bei 40° noch eine kräftige Reduction der alkalischen Kupferlösung zu erkennen.

Die Sauerstoffentwickelung war jedoch auch hier merklich verringert. Beim Erhitzen auf 55° begann die Entwickelung schon schwach zu werden, bei 60° entwickelten sich nur noch kleine Bläschen, welche im Rohre nicht mehr aufstiegen und bei 62° war jede Sauerstoffabspaltung verschwunden.

Die Tödtungstemperatur für die sauerstoffentbindende Kraft des wässrigen Pancreasauszuges liegt demnach um 10° niedriger, wie für die Emulsinlösung, also bei 61°.

Es ist seit Langem bekannt, dass die Enzyme in Lösungen gegen höhere Temperaturen weit weniger widerstandsfähig sind, als im trockenen Zustande, ebenso wie Eiweiss getrocknet weit über die Siedhitze erhitzt werden kann, ohne die Fähigkeit zu verlieren, sich in Wasser zu lösen. So gibt Schmidt[1]) an, dass trockene Fermente bis auf 160° unbeschadet ihrer Fermentwirkung erhitzt werden können.

Es wurden nun je 30 gr. geschälte und zerkleinerte Mandeln eine Stunde lang im Luftbade auf 130° und 140° erhitzt. Der Gewichtsverlust betrug 4 resp. 5 gr. Nach dem Erkalten wurde mit dem 4fachen Gewicht Wasser eine Emulsion angefertigt. Das Filtrat war klar, bei der Portion indess, welche auf 140° erhitzt war, bräunlich gefärbt. 50 cbcm. des Filtrats von den Mandeln, welche auf 130° erhitzt waren, wurden wie oben mit 2 gr. Amygdalin versetzt. Nach 48 Stunden waren 86,867 °/₀ Amygdalin gespalten. Wasserstoffsuperoxyd wurde dagegen nur spurenweise zersetzt, d. h. es zeigten sich an den Wänden des Kölbchens wenige kleine, festhaftende Bläschen (Versuch A 33, 33a).

130° würde also hier die Tödtungstemperatur sein.

Um die Versuche mit reinerem Ferment anstellen zu können, wurden 30 cbcm. der Emulsinlösung mit der 8fachen

---

[1]) Naturforscher, 1876, S. 364.

Menge Alkohol von 96 % gefällt und abfiltrirt. Der Filterrückstand wurde für 10 Minuten in absoluten Alkohol getaucht und dann 3 Tage über Schwefelsäure getrocknet. Das Pulver löste sich in Wasser mit leichter Opalescens und entwickelte stark Sauerstoff. Wurde das Pulver dagegen vor dem Lösen eine Stunde auf 130° erhitzt, so hatte es diese Fähigkeit vollständig eingebüsst. 1 gr. des erhitzten Pulvers vermochte aber von 1 gr. Amygdalin in 48 Stunden 35,55 % zu zersetzen (A 34).

Das Pulver der getrockneten Bauchspeicheldrüse wurde ebenfalls eine Stunde und zwar auf 120° erhitzt. Nach dem Lösen in Wasser und Filtriren zeigte der Auszug starkes Reductionsvermögen, aber die Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu katalysiren war gleichfalls nicht mehr vorhanden (B 13).

Man darf aus diesen Versuchen den Schluss ziehen, dass die Tödtungstemperaturen für die specifische Fermentwirkung durchweg höher liegen als für die Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen. Bei der Emulsinlösung liegen die Temperaturen um etwa 20°, bei der Pancreaslösung um etwa 25° aus einander. Noch grösser ist der Unterschied bei den trocknen Enzymen. Legt man für alle trockne Fermente mit A. Schmidt die Tödtungstemperatur auf 160°, so beträgt die Differenz der Tödtungstemperatur bei Emulsin 30°, bei Pancreatin 40°.

Es ergibt sich ferner aus diesen Versuchen, dass Fermente durch vorsichtiges Erhitzen auf eine bestimmte Temperatur derart verändert werden können, dass sie die Fähigkeit, Wassersuperstoff zu zerlegen, verlieren, ohne dass ihre specifische Wirksamkeit in erheblicher Weise geschwächt wird.

Um zu dem gleichen Resultate, d. h. Vernichtung der katalytischen Kraft ohne Schädigung der specifischen, zu gelangen, wurden Versuche in einer andern Richtung angestellt.

25 cbcm. der Mandelemulsion wurden mit 25 cbcm. Wasser und nach und nach[1]) mit 245 Wasserstoffsuperoxyd

[1]) Die 245 cbcm. Wasserstoffsuperoxydlösung wurden in Portionen von je 25 cbcm. hinzugefügt, wobei jedesmal so lange gewartet wurde, bis die Sauerstoffentwickelung der letzten Portion beendet war.

von 2,11 % [1]) versetzt. Nachdem 1534 cbcm.[2]) Sauerstoff entwickelt waren und im Laufe von 2 Stunden keine weitere Sauerstoffabscheidung zu beobachten war, wurden 120 cbcm. (= 10 cbcm. der angewandten Emulsion) mit der 8fachen Menge Alkohol von 96 % gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Alkohol ausgewaschen und getrocknet. In dem Filtrat war H_2O_2 nachzuweisen. Der getrocknete Niederschlag wurde nun in 50 cbcm. Wasser gelöst und zu 10 cbcm. dieser Lösung auf's Neue 10 cbcm. Wasserstoffsuperoxyd hinzugefügt. Eine Sauerstoffabspaltung fand aber nicht mehr statt. Die übrigen 40 cbcm. Fermentlösung mit 2 gr. Amygdalin versetzt konnten in 72 Stunden 97,086 % zerlegen (A 35, 36).

10 cbcm. Pancreaslösung wurden mit 10 cbcm. Wasser und nach und nach mit 220 cbcm. Wasserstoffoxydlösung versetzt. Nach Entwickelung von 1600[3]) cbcm. Sauerstoff wurde ein Theil der Mischung in derselben Weise mit Alkohol gefällt

---

[1]) Die zu diesen und den folgenden Versuchen verwendete Lösung von H_2O_2 war sehr schwankend im Gehalt und musste daher die Lösung etwa jeden dritten Tag mit Permanganatlösung titrirt werden. Um den störenden Einfluss der Säure, welche jede käufliche Wasserstoffsuperoxydlösung enthält und gegen welche die Fermente in hohem Grade empfindlich sind, zu beseitigen, war es ausserdem nöthig, dieselbe zu neutralisiren. Hundert Theile der hier benutzten Lösung erforderten 8 Theile $^1/_{10}$-Normalkalilauge zur Neutralisation.

[2]) Dieser Versuch gibt zugleich ein Maass für die Leistungsfähigkeit der katalytischen Kraft des Emulsins. Da die Gleichungen bestehen

$$34 : 16 = g : x_1 \quad \text{und} \quad g = \frac{a \cdot p}{100},$$

so ergibt sich

$$x_1 - \frac{8}{1700} \, ap;$$

ferner ist $1000 : 1{,}4302 = x : x_1$, also $x = 3{,}2903 \; a \cdot p$,
d. h. a cbcm. H_2O_2-Lösung von p % geben mit 3,2903 multiplicirt die Anzahl cbcm. O, welche aus a cbcm. Lösung bei völliger Spaltung in H_2O und O zu erhalten sind. Demnach entsprechen also umgekehrt 1534 cbcm. O 220 cbcm. Wasserstoffsuperoxydlösung von 2,11 %. 25 cbcm. Emulsion vermochten daher 220 cbcm. H_2O_2-Lösung von 2,11 % = 4,6 cbcm. H_2O_2 zu zerlegen.

[3]) Die Wasserstoffsuperoxydlösung enthielt bei diesem Versuch 2,57 % H_2O_2. 10 cbcm. Pancreaslösung hatten also 189 cbcm. Wasserstoffsuperoxydlösung von 2,57 % = 4,857 cbcm. H_2O_2 zu zerlegen vermocht.

wie die Mandelemulsion. Der Filterrückstand wurde mit Wasser aufgenommen und gab mit Stärke versetzt in kurzer Zeit starkes Reductionsvermögen zu erkennen. Wasserstoffsuperoxyd wurde dagegen nicht mehr zerlegt (B 14). Wir haben hier daher ein zweites Mittel zur Vernichtung der Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen, nämlich die Erschöpfung der katalytischen Kraft. Durch die Fällung der Fermente mittelst Alkohol und Wiederauflösen ist übrigens der Einwand beseitigt, dass allzu grosse Verdünnung eine scheinbare Vernichtung der katalytischen Kraft herbeigeführt habe.

Es ergab sich nun das Bestreben, vielleicht einen dritten Weg ausfindig machen zu können, auf dem es gelänge, die Wasserstoffsuperoxyd zerlegende Kraft mit Erhaltung der specifischen Fermentwirkung zu zerstören. Zu diesem Zwecke wurden die Fermente mit schwefelsaurem Natron ausgesalzt, die Rückstände mit Wasser aufgenommen, filtrirt und getrocknet.

5 gr. trockner Rückstand der ausgesetzten Mandelemulsion wurde in 100 cbcm. Wasser gelöst. Das klare Filtrat gab mit Wasserstoffsuperoxyd versetzt keine Sauerstoffentwickelung. Zu 50 cbcm. derselben Lösung wurden 2 gr. Amygdalin hinzugefügt. Nach 48 Stunden zeigte sich, dass 97,087 % Amygdalin zersetzt war (A 37).

1 gr. trockner Rückstand der ausgesetzten Pancreaslösung gab in 40 cbcm. Wasser gelöst ein klares Filtrat, welches mit H_2O_2 versetzt keinen Sauerstoff entbinden konnte, wohl aber nach Zusatz von Stärkelösung kräftige Reduction zeigte (B 15). Ganz analog verhielt sich die ausgesalzte Diastaselösung[1]) (C 1).

Wir haben also im Aussalzen mit Na_2SO_4 ein drittes Mittel erhalten, die sauerstoffabspaltende Kraft zu tödten, ohne gleichzeitig die specifische Fermentwirkung zu schädigen.

Wenn wir uns nun die bisher gewonnenen Resultate vergegenwärtigen, so finden wir, dass wir auf dreierlei Weise

---

[1]) Gewinnung der Diastaslösung: 1 Theil gedörrter, geschroteter Gerste wurde mit dem doppelten Gewicht Wasser eine Stunde lang digerirt, dann abgepresst und filtrirt.

die katalytische Kraft der Fermente zerstören können, ohne zugleich die specifische Wirkung zu schädigen, nämlich:

I. Durch vorsichtiges Erhitzen auf bestimmte Temperaturen und zwar:
   a) der wässrigen Auszüge,
   b) der trocknen Substanz,
   c) des gefällten Ferments.

II. Durch Erschöpfung der katalytischen Kraft.

III. Durch Aussalzen mittelst Na_2SO_4.

Man ist sonach berechtigt, den Schluss zu ziehen, dass Verlust des Vermögens, Wasserstoffsuperoxyd zu katalysiren, durchaus nicht den Verlust der specifischen Fermentwirkung bedingt. Aus diesem Grunde bedarf der Eingangs citirte Satz von Schönbein einer starken Einschränkung. Denn wenn es auch bisher nicht gelungen ist, die Fermentwirkung ohne gleichzeitigen Verlust des Vermögens, Sauerstoff zu entbinden, zu vernichten, so erscheint doch in Vorstehendem der Beweis erbracht, dass es sehr wohl möglich ist, auf verschiedene Weise die Eigenschaft der Fermente, Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen, zu vernichten, ohne das Vermögen, specifische Fermentwirkung zu äussern, irgendwie zu alteriren. Beide Eigenschaften sind trennbar, gehen und verschwinden also nicht zusammen.

Um nun die Bedingungen kennen zu lernen, unter welchen die Wasserstoffsuperoxyd zerlegende Kraft geschwächt oder gehemmt wird, wurden eine Reihe von chemischen Stoffen den Fermentlösungen hinzugefügt und unter Beobachtung der Zeit der entwickelte Sauerstoff wie vorher gemessen.

I. Einwirkung von Kalilauge.

Zu abgemessenen Mengen der Fermentlösungen — Emulsin, Pancreatin und Diastase — wurden der Reihe nach 5, 10, 15, 20, 25, 30 und 40 cbcm. $^1/_{10}$-Normal-Kalilauge zugefügt. Nach 5 Minuten Einwirkung wurden die Lösungen mit gemessenen Mengen Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt.

In den folgenden Tabellen gibt die erste Columne den Verlauf der Sauerstoffabscheidung bei Fermentlösungen ohne Zusatz von KOH an.

Tabelle 1. Versuch A 38—40.

20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 20 cbcm. H_2O_2						
		+ 5 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOH = 0,062 %	+ 10 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOH = 0,112 %	+ 20 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOH = 0,187 %	+ 30 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOH = 0.24 %	+ 40 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOH = 0,28 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
2	20 cbcm. O	100 cbcm. O	85 cbcm. O	20 cbcm O	13 cbcm. O	»
3	49 »	170 »	150 »	39 »	32 »	»
6	67 »	—	170 »	61 »	46 »	»
8	82 »	—	—	98 »	74 »	»
10	100 »	—	—	131 »	90 »	»
15	132 »	—	—	170 »	143 »	»
20	150 »	—	—	—	170 »	»
30	170 »	—	—	—	—	3 cbcm. O
Dauer	30 Min.	4 Min.	6 Min.	15 Min.	20 Min.	—

Tabelle 2. Versuch B 16—21.

10 cbcm. Pancreasauszug + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2						
		+ 5 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOH = 0,051 %	+ 10 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOH = 0,093 %	+ 15 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOK = 0,13 %	+ 20 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOH = 0,16 %	+ 25 cbcm. $^1/_{10}$-N.-KOH = 0,187 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
1	12 cbcm. O	82 cbcm. O	65 cbcm. O	19 cbcm. O	1 cbcm. O	»
2	23 »	—	82 »	40 »	6 »	»
4	35 »	—	—	82 »	10 »	»
8	46 »	—	—	—	15 »	»
10	74 »	—	—	-	22 »	»
15	82 »	—	—	—	30 »	»
30	83 »	—	—	—	41 »	»
11 h. 0	—	—	—	—	64 »	0
Dauer	15 Min.	1 Min.	2 Min.	4 Min.	—	—

Tabelle 3. Versuch C 2—7.

40 cbcm. Malzauszug + 10 cbcm. H_2O_2		+ 5 cbcm. 1/10-N.-KOH = 0,062 %	+ 10 cbcm. 1/10-N.-KOH = 0,112 %	+ 20 cbcm. 1/10-N.-KOH = 0,187 %	+ 30 cbcm. 1/10-N.-KOH = 0,24 %	+ 40 cbcm. 1/10-N.-KOH = 0,28 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	—	12 cbcm. O	11 cbcm. O	7 cbcm. O	»	»
10	5 cbcm. O	22 »	17 »	12 »	»	»
15	8 »	32 »	21 »	15 »	»	»
20	10 »	37 »	25 »	18 »	2 cbcm. O	»
25	12 »	42 »	30 »	22 »	2 »	»
30	14 »	48 »	30 »	24 »	4 »	2 cbcm. O
40	18 »	54 »	33 »	29 »	4 »	2 »
50	20 »	61 »	35 »	30 »	8 »	2 »
11 h. 0	21 »	65 »	36 »	31 »	11 »	6 »

Bei allen drei Fermenten wirkt demnach KOH in kleinen Mengen zugesetzt und zwar

bis 0,112 % bei Emulsin,
» 0,13 » » Pancreatin,
» 0,112 » » Diastase

erheblich beschleunigend ein. Bei Zusatz

von 0,28 % zu Emulsin,
» 0,178 » » Pancreatin,
» 0,3 » » Diastase

war die Sauerstoffentwickelung erloschen.

Bei dem Versuch, dessen Verlauf die letzte Columne der Tabelle 1 veranschaulicht, wurden nach einer Stunde die 40 cbcm. $^1/_{10}$-Normal-Kalilauge mit 40 cbcm. $^1/_{10}$-Normal-salzsäure neutralisirt. Es entwickelte sich auch jetzt kein Sauerstoff mehr, auch war nach Zusatz von 2 gr. Amygdalin HCN nicht nachzuweisen. Man darf daher annehmen, dass Emulsin bei Zusatz von 0,28 % KOH zerstört wird.

Die Fermente der Pancreasdrüse scheinen dagegen noch viel empfindlicher gegen KOH zu sein, als Emulsin, denn schon bei Zusatz von 0,16 % ist die Sauerstoffentwickelung nach 30 Minuten nur halb so gross als ohne Zusatz und erlischt schon bei 0,187 % KOH. Neutralisirt man mit $^1/_{10}$-Normal-HCl, so erhält man auch hier weder Sauerstoff-

entwickelung noch Fermentwirkung. Man kann die erhaltenen Resultate dahin zusammenfassen, dass

Alkali bis zu 0,1 % den Fermentlösungen zugesetzt eine Beschleunigung der Sauerstoffentwickelung, über 0,1 % zugesetzt Verlangsamung und Erlöschen dieser Fähigkeit bedingt.

II. Einwirkung von Salzsäure.

Analog den vorigen Versuchen wurde nunmehr den Fermentlösungen 1/10-Normal-Salzsäure zugesetzt.

Tabelle 4. Versuch A 44—49.

20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2

		+ 1 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,0098 %	+ 2 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,0174 %	+ 3 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,025 %	+ 4 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,033 %	+ 6 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,0476 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	15 cbcm. O	13 cbcm. O	4 cbcm. O	2 cbcm. O	»	»
10	35 »	22 »	8 »	5 »	»	»
15	48 »	31 »	13 »	9 »	»	»
20	68 »	40 »	19 »	13 »	2 cbcm. O	»
25	77 »	50 »	28 »	17 »	4 »	»
30	83 »	57 »	32 »	20 »	6 »	»
40	—	68 »	40 »	26 »	7 »	»
50	—	79 »	47 »	32 »	9 »	»
11 h. 0	—	83 »	53 »	35 »	9 »	0

Tabelle 5. Versuch B 22—27.

10 cbcm. Pancreasauszug + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2

		+ 1 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,007 %	+ 2 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,014 %	+ 4 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,027 %	+ 5 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,033 %	+ 6 cbcm. 1/10-N.-HCl = 0,039 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	40 cbcm. O	12 cbcm. O	4 cbcm. O	3 cbcm. O	»	»
10	74 »	32 »	22 »	7 »	»	»
15	83 »	48 »	38 »	20 »	2 cbcm. O	»
20	—	60 »	52 »	31 »	7 »	»
25	—	68 »	60 »	40 »	12 »	»
30	—	73 »	67 »	46 »	18 »	»
40	—	80 »	75 »	54 »	23 »	»
50	—	83 »	80 »	60 »	26 »	2 cbcm. O
11 h. 0	—	—	—	—	—	—

Tabelle 6. Versuch C 8—9.

40 cbcm. Malzauszug + 10 cbcm. H_2O_2			
		+ 1 cbcm. $^1/_{10}$-N.-HCl = 0,0089 %	+ 2 cbcm. $^1/_{10}$-N.-HCl = 0,0174 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung
5	»	»	»
10	5 cbcm. O	»	»
15	8 »	»	»
20	10 »	»	»
25	12 »	»	»
30	14 »	2 cbcm. O	»
40	18 »	2 »	»
50	20 »	2 »	»
10 h. 0	21 »	4 »	0

Die Salzsäure[1]) kann demnach weder eine Beschleunigung noch Vermehrung der Sauerstoffausscheidung bewirken, sondern nur eine Verzögerung und Vernichtung der Abspaltung und zwar schon bei viel geringerem Zusatz als von äquivalenten Mengen Alkali.

Bei Zusatz

von 0,009 % HCl zu Emulsin,
» 0,007 » » » Pancreatin,
» 0,009 » » » Diastase

tritt Verzögerung der Ausscheidung um das Doppelte der gewöhnlichen Zeit ein. Zusatz

von 0,048 % HCl zu Emulsin,
» 0,04 » » » Pancreatin,
» 0,0174 » » » Diastase

bewirkt Sistirung der Ausscheidung. Ganz anders indessen wie KOH verhielt sich HCl zu der specifischen Fermentwirkung. Während bei den Versuchen, bei welchen KOH die Sauerstoff abspaltende Kraft vernichtet hatte, auch die specifische Fermentwirkung verloren gegangen war, auch nicht

[1]) Marcus und Pinet, Compt. rend. soc. d. Biologie, Bd. 83, S. 168, geben an, dass Emulsin im Magen und ebenfalls durch 0,02 % HCl zerstört wird. Griswold, Chem. Ber., Bd. 82, S. 736, hat gefunden, dass Ptyalin durch $^1/_{20}$ % HCl getödtet wird.

durch Neutralisation hatte wiederhergestellt werden können, zeigten die Versuche, bei welchen HCl die Wasserstoffsuperoxyd zerlegende Kraft zerstört hatte, dass die specifische Fermentwirkung durchaus nicht verloren gegangen war. So gab die Mandelemulsion mit Amygdalin versetzt starken Bittermandelölgeruch, der Pancreasauszug und die Diastaselösung kräftige Reduction[1]).

Aus dem Umstand, dass Zusatz von Salzsäure nur Verzögerung, nie Beschleunigung der Sauerstoff entbindenden Kraft bedingt, sowie ferner daraus, dass sie schon in viel kleineren Mengen abtödtend wirkt, muss man schliessen, dass sie für diese Kraft ein stärkeres Gift als Alkali ist.

In Bezug auf die specifische Fermentwirkung scheinen sich die beiden Körper umgekehrt zu verhalten[2]).

III. Einfluss der Salze.

A. Die Halogensalze von Na, K, NH_3, Ca.

Tabelle 7[3]). Versuch 61, 64, 69, 116 und 174.

20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2						
		+ 0,2 cbcm. NaCl = 0,5 %	+ 0,2 cbcm. KCl = 0,5 %	+ 0,2 cbcm. NH_4Cl = 0,5 %	+ 0,2 cbcm. $BaCl_2$ = 0,5 %	+ 0,2 cbcm. $CaCl_2$ = 0,5 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	21 cbcm. O	1 cbcm. O	5 cbcm. O	1 cbcm. O	2 cbcm. O	2 cbcm. O
10	35 »	5 »	14 »	3 »	5 »	5 »

(Fortsetzung von Tabelle 7 auf Seite 354.)

[1]) Es wurde hier darauf verzichtet, quantitativ festzustellen, ob die specifische Wirkung voll erhalten sei. Wir haben vielleicht in der Salzsäure — wie in Säuren überhaupt — ein viertes Mittel, die specifische Wirksamkeit des Ferments von der katalytischen Kraft derselben zu trennen. Dass übrigens Säuren die Fermentwirkung begünstigen, steht für Pepsin ja seit Langem fest. Kjeldal hat sogar gefunden, dass Zusatz von 0,025 % Schwefelsäurehydrat beim Ptyalin den Fermentationsprocess günstig beeinflusst.

[2]) Siehe die Anmerkung auf der vorhergehenden Seite.

[3]) Die Mandeln zu den Versuchen 58 und ff. stammen aus einer andern Bezugsquelle (Berlin). Die benutzte Wasserstoffoxydlösung enthielt 2,3 % H_2O_2 und bedurften 100 Theile 25 cbcm. $^1/_{10}$-Normal-Kalilauge zur Neutralisation. Die Mischung entsprach demnach nur einer Lösung von H_2O_2 von 1,84 %.

Fortsetzung von Tabelle 7.

20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2						
		+ 0,2 cbcm. NaCl = 0,5%	+ 0,2 cbcm. KCl = 0,4%	+ 0,2 cbcm. NH_4Cl = 0,5%	+ 0,2 cbcm. $BaCl_2$ = 0,5%	+ 0,2 cbcm. $CaCl_2$ = 0,5%
10 h. 15 m.	40 cbcm. O	11 cbcm. O	24 cbcm. O	9 cbcm. O	6 cbcm. O	9 cbcm. O
20	45 »	19 »	33 »	12 »	7 »	12 »
30	48 »	30 »	43 »	22 »	11 »	17 »
40	51 »	37 »	47 »	32 »	15 »	23 »
60	60 »	47 »	59 »	41 »	21 »	29 »

Die erste Verticalreihe gibt auch hier wieder den Verlauf der Sauerstoffabspaltung ohne weiteren Zusatz an.

Die Sauerstoffabscheidung war nach Hinzufügung von 0,5% der Chloride aller oben angeführten Körper verzögert. Am schwächsten war die Verzögerung bei Zusatz von Chlorkalium ausgesprochen, es folgte dann der Reihe nach Chlornatrium, Chlorammonium, Chlorcalcium und Chlorbarium.

Bei allen diesen im Abschnitt III angeführten Versuchen beschränkte sich der Zusatz nicht auf die in den Tabellen angegebenen Procentzahlen. Es wurde vielmehr mit Zusatz von 0,1% begonnen und derselbe bis zu 10% fortgesetzt.

Bei KCl ergab sich, dass Zusatz von 10% die Abscheidung sehr stark verzögert, aber nicht hemmt. Nach 24 Stunden waren erst 22 cbcm. O aufgefangen. Aus Amygdalin konnte eine abfiltrirte Probe Blausäure nach einer halben Stunde noch nicht entwickeln.

Die Bromide unterscheiden sich nur wenig von den Chloriden.

Die Jodide dagegen konnten in ihrem Einfluss auf die Sauerstoffabspaltung schwer beurtheilt werden, da sie ja bekanntlich für sich selbst schon Wasserstoffsuperoxyd zersetzen. Immerhin war der Unterschied zwischen einer z. B. mit KJ versetzten Emulsinlösung und der mit gleichviel KJ versetzten Controlprobe, bei welcher nur Wasser, um die

gleiche Verdünnung zu erzielen und dann Wasserstoffsuperoxyd hinzugefügt wurde, bemerkenswerth genug. Die Versuche A 89 und 90 der Tabelle 18 geben den Verlauf der Ausscheidungen. Eine Entscheidung, ob die Jodide der Alkalien eine Beschleunigung der Sauerstoffabspaltung veranlassen können, muss späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Zum grössten Theil gelten diese Bemerkungen, wie hier erwähnt werden mag, für die Eisensalze, welche ebenfalls für sich schon Wasserstoffsuperoxyd zersetzen.

Tabelle 8[1]). Versuch B 40, 42, 44, 70 und 88.

10 cbcm. Pancreaslösung + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2

		+ 1,0 cbcm. NaCl = 2,5 %	+ 1,0 cbcm. KCl = 2,5 %	+ 1,0 cbcm. NH_4Cl = 2,5 %	+ 0,5 cbcm. $BaCl_2$ = 1,25 %	+ 0,5 cbcm. $CaCl_2$ = 1,25 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
2	8 cbcm. O	4 cbcm. O	7 cbcm. O	7 cbcm. O	4 cbcm. O	2 cbcm. O
4	20 »	10 »	12 »	12 »	11 »	3 »
6	28 »	17 »	18 »	18 »	20 »	5 »
10	40 »	26 »	26 »	26 »	35 »	8 »
15	47 »	33 »	35 »	33 »	43 »	11 »
20	50 »	38 »	40 »	38 »	47 »	17 »
30	54 »	45 »	47 »	45 »	50 »	22 »
40	60 »	52 »	54 »	49 »	53 »	33 »

Auf die Sauerstoff entbindende Kraft der Fermente der Pancreasdrüse wirken die Chloride in ähnlicher Weise ein, nur wechselt hier Chlorbarium mit Chlorcalcium den Platz. Die Reihe der Salze — von der schwächsten bis zur stärksten Verzögerung fortschreitend — wäre hier also: Chlorkalium, Chlornatrium, Chlorammonium, Chlorbarium, Chlorcalcium.

---

[1]) Im dritten Abschnitt wurde bei den Versuchen mit Pancreasferment eine getrocknete und gepulverte Bauchspeicheldrüse vom Rind verwendet. Die Lösung wurde aus 1 Theil Pancreaspulver und 20 Theilen Wasser angefertigt.

B. Die Sulfate von Na, K, NH_3, Mn, Cd, Cr, die Sulfide und Hyposulfide.

Tabelle 9. Versuch A 72, 75, 80, 122, 186, 97, 99, 102.

	20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2									
	+ 0.8 cbcm. Na_2SO_4 = 2%	+ 0,08 cbcm. K_2SO_4 = 0,2%	+ 0,8 cbcm. $(NH_4)_2SO_4$ = 2%	+ 0,2 cbcm. $MgSO_4$ = 0,5%	+ 1,0 cbcm. $MnSO_4$ = 2,5%	+ 0,4 cbcm. $CdSO_4$ = 1%	+ 0,1 cbcm. $K_2SO_4, Cr(SO_4)_3$ = 0,25%	+ 0,12 cbcm. $NaHSO_3$ = 0,3%	+ 0,1 cbcm. NaHS = 0,25%	+ 0,1 cbcm. K_2S = 0,25%
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	3 cbcm. O	—	11 cbcm. O	20 cbcm. O	2 cbcm. O	0 cbcm. O	1 cbcm. O	1 cbcm. O	20 cbcm. O	3 cbcm. O
10	6 »	—	27 »	35 »	3 »	1 »	6 »	1 »	33 »	14 »
15	8 »	5 cbcm. O	35 »	38 »	3 »	1 »	11 »	2 »	37 »	19 »
20	10 »	5 »	39 »	42 »	4 »	2 »	14 »	4 »	39 »	21 »
30	15 »	12 »	44 »	49 »	5 »	2 »	18 »	5 »	43 »	25 »
40	21 »	19 »	47 »	55 »	6 »	3 »	20 »	7 »	46 »	29 »
60	26 »	22 »	58 »	59 »	7 »	5 »	26 »	9 »	55 »	34 »

Aus der Tabelle ergibt sich, dass Zusatz von 0,25 % Natriumsulfhydrat und 0,5 % Magnesiumsulfat keine, von 2 % Ammonsulfat nur eine ganz geringe Abschwächung der Sauerstoffabspaltung bewirkt. In stärkerem Maasse beeinflussen die Sauerstoffabscheidung abschwächend 0,25 % Schwefelkalium, noch stärker 2 % Natriumsulfat, 0,25 % Chromalaun und 0,2 % Kaliumsulfat, am stärksten 0,3 % Natriumthiosulfat, 2,5 % Mangansulfat und 1 % Cadmiumsulfat.

Am auffälligsten ist das Verhalten von Kaliumsulfat. Bei Zusatz von nur 0,2 % beträgt die Sauerstoffabscheidung nach einer Stunde nur 22 cbcm., bei Zusatz von 1 % sogar nur 19 cbcm. in 2 Stunden. Den gleichen Effect wie 1 % K_2SO_4 bewirken erst 5 % Na_2SO_4. Zusatz von 1 % K_2S hemmt fast völlig — 2 cbcm. in 1 Stunde —, das Gleiche gilt von 1 % NaHS — 6 cbcm. in 1 Stunde —. Bei letzterem Versuch konnte auch keine Blausäureentwickelung auf Zusatz von Amygdalin erzielt werden.

Tabelle 10. Versuch B 46, 48, 50, 60, 62, 90.

10 cbcm. Pancreaslösung + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2						
	+ 2,0 cbcm. Na_2SO_4 = 4 %	+ 2,0 cbcm. K_2SO_4 = 4 %	+ 2,0 cbcm. $(NH_4)_2SO_4$ = 4 %	+ 0,5 cbcm. $NaHSO_3$ = 1,0 %	+ 0,5 cbcm. NaHS = 1,0 %	+ 0,5 cbcm. K_2S = 1,0 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
2	2 cbcm. O	14 cbcm. O	4 cbcm. O	0 cbcm. O	0 cbcm. O	0 cbcm. O
4	5 »	33 »	11 »	0 »	1 »	1 »
6	11 »	45 »	18 »	0 »	2 »	1 »
10	17 »	54 »	30 »	0 »	2 »	3 »
15	23 »	56 »	39 »	0 »	3 »	3 »
20	31 »	57 »	43 »	0 »	3 »	5 »
30	40 »	58 »	50 »	1 »	3 »	6 »
50	48 »	60 »	54 »	1 »	5 »	9 »

Hier zeigt Kaliumsulfat ein entgegengesetztes Verhalten, da bei Zusatz von 4 % die Sauerstoffabscheidung eine deutliche Beschleunigung erkennen lässt. Gleicher Zusatz von Ammon- und Natriumsulfat bewirken geringe Abschwächung. Die übrigen Salze wirken erst bei Zusatz von 1 % stark hemmend. Die Pancreasfermente sind demnach hinsichtlich ihrer Sauerstoff entbindenden Kraft viel toleranter gegen schwefelsaure Salze und Schwefelverbindungen als das Emulsin.

C. Die Nitrate von K, Na, NH_3, Sr, Bi.

Tabelle 11. Versuch A 84, 87, 92, 176, 177, B 51, 53, 55.

	20 cbcm. Emulsin + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2					10 cbcm. Pancreaslösung + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2		
	+ 0,8 cbcm. $NaNO_3$ = 2,0 %	+ 0,4 cbcm. KNO_3 = 1,0 %	+ 0,4 cbcm. NH_4NO_3 = 1,0 %	+ 0,5 cbcm. $Bi(NO_3)_3$ = 1,25 %	+ 0,1 cbcm. $Sr(NO_3)_2$ = 0,25 %	+ 1,0 cbcm. $NaNO_3$ = 2,0 %	+ 1,0 cbcm. KNO_3 = 2,0 %	+ 1,0 cbcm. NH_4NO_3 = 2,0 %
10h. 0m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	0 cbcm. O	1 cbcm. O	1 cbcm. O	0 cbcm. O	0 cbcm. O	0 cbcm. O	0 cbcm. O	0 cbcm. O
10	1 »	1 »	1 »	0 »	1 »	0 »	0 »	1 »
15	2 »	2 »	2 »	0 »	2 »	0 »	1 »	2 »
20	5 »	2 »	3 »	0 »	3 »	1 »	2 »	4 »
30	8 »	3 »	3 »	0 »	4 »	3 »	4 »	6 »
40	10 »	3 »	5 »	0 »	5 »	4 »	6 »	8 »
50	12 »	4 »	8 »	0 »	8 »	6 »	9 »	12 »
—	—	—	—	—	—	7 »	12 »	18 »

Die Nitrate der Alkalien schwächen schon bedeutend bei Einwirkung von 2 resp. 1% in der Reihenfolge: $NaNO_3$, $(NH_4)NO_3$, KNO_3. Wismutsubnitrat hemmt bei Zusatz von 1,25% die Sauerstoffabscheidung völlig, das Gleiche gilt für 1,25% $Sr(NO_3)_2$. Fermentwirkung ist dagegen in beiden Fällen vorhanden. Barytnitrat vernichtet gleichfalls die Sauerstoffentwickelung gänzlich, ohne auf die specifische Wirkung Einfluss zu haben.

Die Sauerstoff entbindende Kraft der Pancreasfermente wird durch die Nitrate der Alkalien ebenfalls stark gehemmt. Die Reihenfolge ist hier Ammonnitrat, Kaliumnitrat, Natriumnitrat.

D. Natriumnitrit.

Tabelle 12. Versuch A 54—57.

20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2

	+ 1 cbcm. 1% $NaNO_2$ = 0,025%	+ 2 cbcm. 1% $NaNO_2$ = 0,05%	+ 3 cbcm. 1% $NaNO_2$ = 0,07%	+ 4 cbcm. 1% $NaNO_2$ = 0,1%
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
15	»	»	»	»
30	4 cbcm. O	»	»	»
40	10 »	»	»	»
50	12 »	»	»	»
11 h. 0	14 »	»	»	»
12 h. 0	24 »	8 cbcm. O	4 cbcm. O	2 cbcm. O
2 h. 0	33 »	18 »	13 »	7 »
4 h. 0	41 »	30 »	15 »	12 »

Tabelle 13. Versuch B 33—36.

10 cbcm. Pancreasauszug + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2

	+ 1 cbcm. 1% $NaNO_2$ = 0,02%	+ 3 cbcm. 1% $NaNO_2$ = 0,06%	+ 5 cbcm. 1% $NaNO_2$ = 0,1%	+ 7 cbcm. 1% $NaNO_2$ = 0,14%
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
15	7 cbcm. O	1 cbcm. O	»	»
30	10 »	4 »	3 cbcm. O	»
40	14 »	6 »	3 »	»
50	17 »	9 »	4 »	»
11 h. 0	22 »	14 »	6 »	»
12 h. 0	28 »	19 »	9 »	»
2 h. 0	32 »	21 »	11 »	»

Die Verzögerung der Sauerstoffausscheidung ist bei Emulsin sehr beträchtlich. Bei Zusatz von 0,1 % werden in 2 Stunden nur 2 cbcm. O abgeschieden. Die Einwirkung auf Pancreasferment ist fast gleich stark. Die specifische Fermentwirkung war bei beiden Fermenten auch nach Zusatz von 0,1 resp. 0,15 % vorhanden.

E. Die Phosphate von Na und Ca.

Tabelle 14. Versuch A 136, 158, 112, B 79, 62, 68.

	20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2			10 cbcm. Pancreaslösung + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2		
	+ 0,4 cbcm. NaH_2PO_4 = 1,0 %	+ 0,1 cbcm. $Na_4P_2O_7$ = 0,25 %	+ 0,04 cbcm. $Ca(H_2PO_4)_2$ = 0,1 %	+ 0,1 cbcm. NaH_2PO_4 = 0,2 %	+ 0,5 cbcm. $Na_4P_2O_7$ = 1,0 %	+ 0,2 cbcm. $Ca(H_2PO_4)_2$ = 0,4 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	18 cbcm. O	36 cbcm. O	2 cbcm. O	47 cbcm. O	24 cbcm. O	4 cbcm. O
10	28 »	37 »	3 »	50 »	25 »	12 »
15	34 »	37 »	4 »	52 »	28 »	16 »
20	38 »	38 »	5 »	52 »	31 »	23 »
30	45 »	42 »	7 »	54 »	33 »	31 »
40	50 »	46 »	7 »	57 »	35 »	35 »
50	54 »	51 »	8 »	59 »	36 »	38 »

Pyrophosphorsaures Natron bewirkt bei Zusatz von 0,25 % zu Emulsin eine deutliche Beschleunigung, welche bei Zusatz von 1 % zur Pancreaslösung nur in den Anfangsgliedern ausgesprochen ist. Gegen das Kalksalz ist Emulsin weit empfindlicher als Pancreatin. Setzt man zu Emulsin 0,4 % von $Ca(H_2PO_4)_2$ hinzu, so ist die Sauerstoffabscheidung vollständig gehemmt.

F. Salze der Arsen-, Antimon- und Chlorsäure.

Tabelle 15. Versuch A 107, 111, 125, 164.

	20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm H_2O_2			
	+ 0,4 cbcm. $KAsO_2$ = 1,0 %	+ 0,4 cbcm. KH_2AsO_3 = 1,0 %	+ 0,2 cbcm. $KSbO_3$ = 0,5 %	+ 1,0 cbcm. $KClO_3$ = 2,5 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	7 cbcm. O	4 cbcm. O	0 cbcm. O	1 cbcm. O
10	12 »	15 »	0 »	2 »
15	17 »	21 »	1 »	5 »
20	20 »	25 »	3 »	10 »

(Fortsetzung von Tabelle 15 auf Seite 361.)

Fortsetzung von Tabelle 15.

20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2				
	+ 0,4 cbcm. $KAsO_2$ = 1,0 %	+ 0,4 cbcm. KH_2AsO_4 = 1,0 %	+ 0,2 cbcm. $KSbO_3$ = 0,5 %	+ 1,0 cbcm. $KClO_3$ = 2,5 %
10 h. 30 m.	23 cbcm. O	30 cbcm. O	5 cbcm. O	19 cbcm. O
40	27 »	34 »	6 »	27 »
50	30 »	37 »	10 »	30 »
60	36 »	41 »	12 »	32 »

Arsenigsaures Kali hemmt Emulsin stärker als arsensaures Kali, chlorsaures Kali zeigt schon bei Einwirkung von 0,5 % eine Verzögerung in der Sauerstoffausscheidung. Bei Zusatz von 5 % konnten indess noch 50 cbcm. O in 24 Stunden aufgefangen werden. Das antimonsaure Kali äussert schon bei Zusatz von 0,2 % starke Hemmung. Die Fermentwirkung war jedoch nicht geschwächt worden[1]).

Tabelle 16. Versuch B 64, 66, 75, 89.

10 cbcm. Pancreaslösung + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2				
	+ 0,8 cbcm. $KAsO_2$ = 1,6 %	+ 0,4 cbcm. KH_2AsO_4 = 0,8 %	+ 0,5 cbcm. $KSbO_3$ = 1,0 %	+ 0,5 cbcm. $KClO_3$ = 1,0 %
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
2	4 cbcm. O	2 cbcm. O	0 cbcm. O	0 cbcm. O
4	5 »	8 »	0 »	1 »
6	6 »	15 »	0 »	3 »
10	7 »	26 »	2 »	6 »
15	7 »	30 »	7 »	11 »
20	7 »	30 »	12 »	19 »
30	8 »	31 »	21 »	28 »
50	11 »	33 »	30 »	36 »

Das arsenigsaure Kali gibt bei Zusatz von 0,2 % zur Pancreaslösung eine geringe Beschleunigung zu erkennen, bei Zusatz von 1,6 % hemmt es dagegen schon recht stark die Sauerstoffentwickelung. Gegen antimon- und chlorsaures Kali scheint das Pancreasferment toleranter zu sein als Emulsin, zeigt also dasselbe Verhalten wie gegen Sulfate.

[1]) Siehe Schäfer und Böhm, Verhandlungen der phys.-med. Gesellschaft zu Würzburg, N. F., Bd. 3, S. 238.

G. Salze organischer Säuren, Rhodankalium, Harnstoff, Aether, Chloroform, Chloralhydrat.

Tabelle 17. Versuch A 133, 120, 145, 139, 169, 190, 167.

	20 cbcm. Emulsion + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2							
	+ 0,8 cbcm. $KCOONa$ = 2,0%	+ 0,4 cbcm. $KC_2H_3O_2$ = 1,0%	+ 0,4 cbcm. $Ba(C_2H_3O_2)_2$ = 1,0%	+ 0,4 cbcm. $Mg(C_2H_3O_2)_2$ = 1,0%	+ 0,4 cbcm. $K_2C_2O_4$ = 1,0%	+ 0,4 cbcm. $NaC_4H_6O_4$ = 1,0%	+ 1.0 cbcm. $KSbOC_4H_6O_4$ = 2,5%	+ 0,4 cbcm. $Na_3C_6H_5O_7$ = 1,0%
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	3 cbcm. O	9 cbcm. O	17 cbcm. O	8 cbcm. O	3 cbcm. O	20 cbcm. O	6 cbcm. O	21 cbcm. O
10	10 »	15 »	23 »	13 »	10 »	31 »	22 »	33 »
15	17 »	18 »	27 »	17 »	15 »	33 »	27 »	36 »
20	21 »	19 »	30 »	18 »	19 »	34 »	31 »	37 »
30	26 »	21 »	33 »	22 »	23 »	35 »	33 »	39 »
40	28 »	23 »	36 »	24 »	24 »	37 »	36 »	42 »
50	30 »	24 »	39 »	25 »	26 »	39 »	37 »	45 »

Tabelle 18. Versuch A 148, 126, 157, 154, 188, 180, 89, 90.

	20 cbcm. Emulsin + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2							40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2
	+ 0,4 cbcm. $Mg(C_7H_6O_3)_2$ = 1,0%	+ 0,04 cbcm. CNSK = 0,1%	+ 1,0 cbcm. CON_2H_4 = 2,5%	+ 5 cbcm. $CHCl_3$	+ 5 cbcm. $C_4H_{10}O$	+ 2,0 cbcm. CCl_3-COH = 5%	+ 0,2 cbcm. KJ = 0,5%	+ 0,2 cbcm. KJ = 0,5%
10 h. 0 m.	0 cbcm. O	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
5	0 »	0 cbcm. O	9 cbcm. O	5 cbcm. O	14 cbcm. O	0 cbcm. O	33 cbcm. O	0 cbcm. O
10	1 »	1 »	17 »	10 »	23 »	2 »	42 »	2 »
15	2 »	2 »	21 »	15 »	26 »	4 »	46 »	5 »
20	2 »	3 »	23 »	21 »	27 »	10 »	48 »	7 »
30	3 »	5 »	27 »	29 »	30 »	20 »	50 »	11 »
40	4 »	7 »	30 »	36 »	32 »	25 »	53 »	16 »
50	5 »	9 »	32 »	40 »	35 »	28 »	55 »	21 »

Am meisten giftig wirkt von diesen Körpern auf die Sauerstoffentwickelung das Schwefelcyankalium ein. Bereits bei einem Gehalt von 0,1 % sind in einer Stunde nur 10 cbcm. O entwickelt, bei 0,5 % nur noch 2 cbcm. und bei 1 % sind beide Fermentwirkungen erloschen.

Salicylsaure Magnesia wirkt bei Zusatz von 1 % ebenfalls stark hemmend, die specifische Fermentwirkung ist aber auch bei Zusatz von 2 % noch vorhanden. Wird die Emulsion mit Chloroform[1]) oder Aether geschüttelt, so zeigt sich nach Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd, dass die Sauerstoff entbindende Kraft des Ferments gleichfalls eine Einbusse erlitten hat. Dasselbe gilt — nur in stärkerem Maasse — wenn die Lösung mit 2 % Chloralhydrat versetzt wird. Harnstoff wirkt nur mässig hemmend.

Die Salze der organischen Säuren lassen sämmtlich bei Zusatz von 1—2 % eine hemmende Wirkung auf die Sauerstoff entbindende Kraft erkennen. Werden sie so angeordnet, dass das am schwächsten hemmend wirkende Salz an erster Stelle steht, so würde sich folgende Reihe ergeben:

Weinsaures Natron,
Essigsaurer Baryt,
Brechweinstein,
Ameisensaures Natron,
Oxalsaures Kali,
Essigsaures Kali,
Essigsaure Magnesia,
Salicylsaure Magnesia.

---

[1]) Siehe Detmer, Landw. Jahrbücher 1881, S. 5 und 6.

Tabelle 19. Versuch B 78, 82, 71, 81, 86, 85, 83, 76, 84.

10 cbcm. Pancreaslösung + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2									
	+ 0,2 cbcm. $NaCHO_2$ = 0,4%	+ 0,5 cbcm. $K_2C_2H_3O_2$ = 1,0%	+ 0,1 cbcm. $Ba(C_2H_3O_2)_2$ = 0,2%	+ 0,5 cbcm. $K_2C_2O_4$ = 1,0%	+ 0,5 cbcm. $NaC_4H_6O_4$ = 1,0%	+ 0,5 cbcm. $KSbOC_4H_5O_4$ = 1,0%	+ 0,5 cbcm. $Mg(C_7H_6O_3)_2$ = 1,0%	+ 0,05 cbcm. CNSK = 0,1%	+ 0,5 cbcm. CON_2H_4 = 1,0%
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
2	0 cbcm. O	34 cbcm. O	19 cbcm. O	29 cbcm. O	22 cbcm. O	7 cbcm. O	2 cbcm. O	0 cbcm. O	40 cbcm. O
4	4 »	48 »	25 »	46 »	38 »	19 »	14 »	0 »	47 »
6	12 »	54 »	28 »	49 »	46 »	25 »	25 »	0 »	50 »
10	26 »	56 »	30 »	53 »	49 »	27 »	38 »	0 »	51 »
15	40 »	57 »	33 »	55 »	51 »	29 »	45 »	0 »	52 »
20	46 »	57 »	36 »	56 »	53 »	31 »	48 »	0 »	52 »
30	52 »	58 »	40 »	58 »	54 »	34 »	51 »	0 »	54 »
50	53 »	60 »	45 »	59 »	56 »	36 »	52 »	1 »	56 »

Auch auf die Pancreasfermente wirkt wieder am stärksten Rhodankalium ein. Bei Zusatz von 0,1 % ist nur 1 cbcm. O in einer Stunde entwickelt. Die specifische Wirkung ist ebenfalls getödtet. Harnstoff zeigt eine beschleunigende Wirkung.

Die organischen Salze lassen sich hier zu folgender Reihe anordnen:

Essigsaures Kali,	Brechweinstein,
Oxalsaures Kali,	Salicylsaure Magnesia,
Weinsaures Natron,	Ameisensaures Natron.
Essigsaurer Baryt,	

Es hat den Anschein, als ob die Kalisalze der geprüften Säuren auf die katalytische Kraft des Emulsins stärker einwirken als auf Pancreatin. Sieht man von Chlorkalium ab, welches erst in grossen Dosen stark hemmend wirkt, so ergibt sich, dass Kaliumsulfat, Kaliumnitrat, Kaliumacetat und Oxalat viel stärker schwächend auf Emulsin wirken, während dieselben Salze in derselben Concentration das Pancreasferment verhältnissmässig nur wenig ungünstig beeinflussen, ja das Kaliumsulfat sogar eine deutliche Beschleunigung der Sauerstoffabscheidung veranlasst. Dasselbe gilt in noch höherem Maasse von Acetat und Oxalat.

IV. Einfluss von Blausäure, Cyanamid, Hydroxylamin.

Tabelle 20. Versuch A 50, 51, B 28, 29.

	20 cbcm. Emulsin + 20 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2		10 cbcm. Pancreaslösung + 40 cbcm. H_2O + 10 cbcm. H_2O_2	
		+ 2 cbcm. ½ % HCN = 0,024 %		+ 2 cbcm. ½ % HCN = 0,02 %
10 h. 0 h.	Mischung	Mischung	Mischung	Mischung
1	2 cbcm. O	—	6 cbcm. O	—
5	18 »	—	31 »	—
10	38 »	—	40 »	—
15	43 »	—	47 »	—
30	47 »	1 cbcm. O	50 »	1 cbcm. O
40	50 »	2 »	54 »	2 »
11 h. 0	60 »	3 »	60 »	6 »
15	—	7 »	—	8 »
30	—	8 »	—	9 »
12 h. 10	—	12 »	—	16 »
2 h. 30	—	23 »	—	28 »
3 h. 40	—	28 »	—	37 »
24 Stunden	—	48 »	—	60 »

Die Blausäure wirkt auf die Sauerstoff entbindende Kraft beider Fermente in gleicher Weise ein. Bei der Mandelemulsion sowohl wie bei dem Pancreasauszuge beginnt die Sauerstoffabspaltung bei Zusatz von 0,02% HCN erst dann, wenn ohne Zusatz die Entwickelung beinahe beendet ist, d. h. der Beginn der Ausscheidung ist um eine halbe Stunde verzögert. Die Entwickelung geschieht sehr stockend und ist bei dem Pancreasauszug erst in 24 Stunden beendet. Bei der Emulsion sind nach dieser Zeit erst $^4/_5$ des abspaltbaren Sauerstoffs entbunden. Bei Zusatz grösserer Mengen HCN ist die Entwickelung noch weit stärker verzögert.

Um zu prüfen, ob etwa auch die specifische Fermentwirkung durch den Blausäurezusatz gehemmt wird, wurde folgender Versuch angestellt: Zu je 30 cbcm. der Emulsion und des Pancreasauszuges wurden 20 cbcm. 2% Blausäure = 0,8% zugesetzt. Nachdem die Blausäure 5 Stunden auf die Fermentlösungen eingewirkt hatte, wurde die Mischung mit 300 cbcm. 96% Alkohol gefällt, filtrirt und der Filterrückstand mit verdünntem Alkohol bis zum Verschwinden der Blausäurereaction ausgewaschen. Nach Behandlung mit absolutem Alkohol wurde der Filterrückstand getrocknet und in 30 cbcm. Wasser gelöst. Ein Theil dieser Lösung wurde nun, um die Abwesenheit von HCN zu constatiren, mit Schwefelsäure destillirt. Im Destillat konnte Blausäure nicht mehr nachgewiesen werden. Die nun blausäurefreien Lösungen wurden jetzt auf ihre Fermentwirkung geprüft. Das Emulsin gab, mit Amygdalin versetzt, einen starken Bittermandelölgeruch zu erkennen, desgleichen gab das Pancreasferment mit Stärke und Fehling'scher Lösung starke Reduction. Nach Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd zu den Lösungen der Fermente war beim Emulsin nach 2 Stunden noch keine Sauerstoffentwickelung zu bemerken, beim Pancreasferment war dagegen eine Sauerstoffabspaltung, wenn auch sehr abgeschwächt, vorhanden. Die Blausäure scheint demnach nur einen hemmenden Einfluss auf die Sauerstoffabspaltung auszuüben, wie auch schon Schönbein[1]) behauptet hat. Eine

[1]) Schönbein sagt im Journ. f. pr. Chem., Bd. 105, S. 202: «Alle organischen Materien, welche Wasserstoffsuperoxyd zu katalysiren ver-

Einwirkung der Blausäure auf die specifische Fermentwirkung in ungünstigem Sinne war dagegen nicht zu erkennen. Es stimmt hiermit die Beobachtung Fichter's[1]) überein, welcher fand, dass Ptyalin, Trypsin und Pepsin selbst grössere Mengen Blausäure ohne Schädigung ertragen können.

Tabelle 21. Versuch A 53, B 31, C 11.

2 cbcm. 1 % $CH_2(OH)$, HCl			
	+ 20 cbcm. Emulsion + 20 H_2O + 10 H_2O_2	+ 10 cbcm. Pancreasauszug + 40 H_2O + 10 H_2O_2	+ 40 cbcm. Diastaselösung + 10 H_2O_2
10 h. 0 m.	Mischung	Mischung	Mischung
15	»	»	»
30	»	»	»
11 h. 0	»	2 cbcm. O	»
30	»	3 »	»
12 h. 0	1 cbcm. O	6 »	»
30	3 »	8 »	»
1 h. 0	5 »	12 »	1 cbcm. O
2 h. 0	7 »	21 »	1 »
3 h. 0	8 »	35 »	1 »
24 Stunden	15 »	59 »	4 »

Hydroxylamin scheint demnach ein starkes Gift zu sein für die Fähigkeit der Fermente, Sauerstoff zu entbinden. Malzdiastase vermag bei Zusatz von 0,05 % in 24 Stunden

mögen, äussern diese Wirkung bei Anwesenheit auch verhältnissmässig nur sehr kleiner Mengen von Blausäure entweder gar nicht mehr oder nur sehr schwach. Auch Blausäuredampf vernichtet in wenigen Secunden diese Fähigkeit. Nach Verweilen an der Luft kommt sie wieder.» Diese Behauptung wird durch obenstehende Ausführung nur bestätigt. Beim Pancreasauszug war nach Entfernung der Blausäure eine Abspaltung von O vorhanden, beim Emulsin allerdings nach 2 Stunden noch nicht, man darf aber nicht vergessen, dass Behandlung mit Alkohol die Fermente stark schädigt (siehe A. Meyer, Enzymologie, Heidelberg 1882 bei Winter) und dass hier die Verzögerung zum grössten Theil wohl auf den Alkohol zurückzuführen ist. Uebrigens kam es hier vorzugsweise darauf an, den Einfluss der Blausäure auf die Ausscheidung von O quantitativ zu bestimmen.

[1]) Fichter, Ueber den Einfluss der Blausäure auf Fermentvorgänge, Inaug.-Diss., Basel 1875. Siehe auch Schaer, Pharmaz. Vierteljahresschrift, Bd. 18, S. 371 und 497.

nur 4 cbcm. O zu entwickeln, Emulsin in gleicher Zeit und bei gleich viel Zusatz 15 cbcm. O. Am meisten widerstandsfähig erscheint das Pancreasferment, welches bei Zusatz von 0,04 % in 24 Stunden 59 cbcm. O abzuspalten vermag. Die Mandelemulsion wurde nach Entwickelung der 15 cbcm. O filtrirt und mit 2 gr. Amygdalin 48 Stunden auf 40° erwärmt. Bei der Destillation fanden sich 90,7 % Amygdalin zersetzt. Der filtrirte Pancreasauszug gab ebenfalls wie die Diastaselösung mit Stärke und alkalischer Kupferlösung starke Reduction. Hydroxylamin wirkt also wie die Blausäure nur lähmend auf die Sauerstoffentwickelung ein.

Cyanamid – NH_2CN – vermochte die Sauerstoffabscheidung beim Emulsin in Stärke von 0,2 %, beim Pancreatin in Stärke von 0,166 % zugefügt etwa um die doppelte Zeit zu verzögern. Die specifische Fermentwirkung wurde nicht beeinträchtigt. Das Gleiche gilt von Cyanmethyl — CH_3CN —. Eine Schwächung der Fermentwirkung wurde auch hier nicht constatirt.

Die Homologen der Blausäure wirken demnach im selben Sinne wie diese, wenn auch viel schwächer, auf die Sauerstoffabscheidung der Fermente ein.

Die angeführten Versuche lassen ein sehr verschiedenes Verhalten der Sauerstoff entbindenden Kraft der Fermente erkennen. Während Alkali bis zu 0,12 % eine Beschleunigung der Sauerstoffentbindung veranlasst, bei Zusatz von 0,25 % diese Kraft tödtet, verzögert Salzsäure schon bei Zusatz von 0,008 % die Ausscheidung recht beträchtlich und tödtet bei 0,035 %. Die geprüften Salze lassen eine allgemeine Betrachtung ihrer Wirkung nicht zu, da hier dieselbe ziemlich regellos erscheint. Diese wird sich vielleicht erst anstellen lassen, wenn der Einfluss der Salze auf die specifische Fermentwirkung zusammengestellt ist, was einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben soll, in welcher auch zugleich die Metallsalze geprüft werden sollen. Vielleicht werden sich auch dann einige therapeutische Fingerzeige ergeben, denn es ist nicht unwahrscheinlich, dass diejenigen Körper, welche günstig auf den Stoffwechsel einwirken, gerade die Fermente zu erhöhter Leistung antreiben.

Zur Kenntniss der Rohfaserbestimmung.

Von

Dr. S. Gabriel.

(Mittheilung aus dem thierchemischen Institut der Universität Breslau.)
(Der Redaction zugegangen am 9. Januar 1892.)

Vor längerer Zeit hat M. Hönig[1]) eine Methode zur Bestimmung der Rohfaser (und Stärke) angegeben, welche sich auf die Beobachtung stützt, dass sowohl Eiweiss wie Stärke beim Erhitzen mit Glycerin auf 210° C. in Lösung gehen, bezw. in wasserlösliche Producte verwandelt werden, während Cellulose bei der gleichen Behandlungsweise nicht angegriffen wird. Die von Hönig mitgetheilten vier Beleganalysen beziehen sich sämmtlich auf Getreidearten, wie denn überhaupt seine Methode speciell für die Analyse der Cerealien berechnet zu sein scheint. Die Einzelanalysen stimmen gut überein; allerdings erregt es von vornherein Befremden, wenn Hönig den Cellulosegehalt des Hafers, nach seiner Methode bestimmt, zu 20,52°/₀ angibt, eine Zahl, welche etwa 10°/₀ über dem Durchschnitt liegt, während der gleichzeitig ermittelte Gehalt an Stärke (44,24°/₀) ebensoviel hinter dem Durchschnitt zurückbleibt. Auch wird man dem Autor schwerlich beipflichten können, wenn er meint, der Stickstoffgehalt der nach seiner Methode isolirten Rohfaser sei zu vernachlässigen, da derselbe höchstens 1°/₀ betrage. 1°/₀ Stickstoff entspricht nach der gewöhnlichen Rechnungsweise 6,25°/₀ Stickstoffsubstanz, eine Quantität, welche als sehr hoch bezeichnet werden muss und keineswegs vernachlässigt werden darf, wenn man grobe Fehler vermeiden will. Ausserdem ist zu beachten, dass der Factor 6,25 gerade im vorliegenden Falle mit grosser

[1]) Chemiker-Ztg., 1890, No. 53 u. 54.

Unsicherheit behaftet und eher zu klein als zu gross ist. Die Eiweisskörper erleiden beim Erhitzen mit Glycerin in ähnlicher Weise wie unter der Einwirkung gespannter Wasserdämpfe tiefgreifende Zersetzungen, welche zur Abspaltung von immer stickstoffreicheren Atomcomplexen, in letzter Linie von Ammoniak, führen. Der Stickstoff-Gehalt des bei dieser Reaction hinterbleibenden Rückstandes wird daher voraussichtlich immer kleiner, der Ableitungsfactor für die Berechnung der Stickstoffsubstanz dementsprechend grösser.

Bei der Wichtigkeit der Rohfaserbestimmung für viele agriculturchemische Untersuchungen und der Umständlichkeit des bisher allgemein gebräuchlichen Weender Verfahrens erschien es wünschenswerth, mehr Material zur Beurtheilung der Hönig'schen Methode zu sammeln und die Verwendbarkeit derselben oder des ihr zu Grunde liegenden Princips für die Analyse der landwirthschaftlichen Futtermittel und Fäkalstoffe näher in's Auge zu fassen. Auf Veranlassung des Herrn Prof. H. Weiske habe ich eine Anzahl diesbezüglicher Versuche ausgeführt, über welche im Folgenden berichtet werden soll.

Hönig nimmt das Erhitzen in einem eigens dazu construirten Apparate und zwar im Schwefelsäure-Bad vor. Ich habe mich Anfangs gleichfalls eines solchen Apparates bedient, dann aber gefunden, dass man jede Heizflüssigkeit entbehren und ohne Weiteres über freiem Feuer, am besten unter Anwendung eines sogenannten Pilzbrenners, erhitzen kann. Diese Arbeitsweise bietet nicht nur den Vortheil grösserer Bequemlichkeit, sondern gestattet auch ein weit schnelleres und sichereres Reguliren der Temperatur, was bei dem meist eintretenden starken Schäumen der Masse von Wichtigkeit ist.

Da es sich bei den vorliegenden Versuchen ausschliesslich um die Bestimmung der Rohfaser handelte, so konnten alle Operationen, welche nur die Abtrennung der Stärke zum Zweck haben, ausgeschieden werden. Das Verfahren nahm daher folgende einfachere Gestalt an, in welcher wir dasselbe als Glycerin-Verfahren bezeichnen wollen:

In einen 250 cbcm. fassenden Kolben bringt man 2 gr. fein gepulverte Substanz, 60 cbcm. Glycerin, senkt ein

Thermometer ein und erhitzt auf einem Drahtnetz. Bei 130° tritt in der Regel stürmische Reaction und lebhaftes Aufschäumen ein. Man mässigt desshalb die Hitze und bringt den etwa aufsteigenden Schaum durch Umschwenken des Kolbens immer wieder zum Sinken. Die durch den Schaum über das Niveau der Flüssigkeit emporgehobenen Substanztheilchen können durch entsprechendes Wenden des Gefässes leicht wieder in dieselbe zurückgebracht werden. Bei 160° ist die Hauptreaction in der Regel vorüber. Man vergrössert daher die Flamme und steigert die Temperatur allmälig auf 210°. Nun lässt man auf 140° erkalten, entleert den Inhalt des Kolbens in eine Schale, in welcher sich 200 cbcm. heisses Wasser befinden, spült mit heissem Wasser nach, rührt um, lässt gut absitzen und zieht die überstehende Flüssigkeit mit einem mit Leinwand überspannten Heber ab. Man kocht noch einmal mit 200 cbcm. Wasser auf, hebert wiederum ab, bringt auf ein gewogenes Filter, vollendet das Auswaschen mit heissem Wasser, heissem Alkohol und Aether, trocknet und wägt. In der gewogenen Rohfaser wird wie bei der Weender Methode Stickstoffsubstanz und Asche bestimmt und die Summe beider in Abzug gebracht.

In der eben beschriebenen Art und Weise habe ich zunächst zwei Futtermittel — eine Körnerfrucht (gelbe Lupine) und eine Rauhfutterart (Wiesenheu) — analysirt; gleichzeitig bestimmte ich den Rohfaser-Gehalt beider Stoffe auch nach der Weender Methode und erhielt dabei folgende Resultate:

Gelbe Lupine.

Glycerin-Methode.				Weender Methode.			
tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %	tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,8872	0,4040	21,41		3,0052	0,4928	16,40	
1,8872	0,3931	20,83		3,0003	0,4999	16,66	
1,8872	0,4092	21,68	21,00	3,0014	0,4922	16,40	16,63
1,8872	0,3881	20,57		3,0030	0,5020	16,75	
1,8872	0,3873	20,52		3,0021	0,5082	16,93	
Gehalt der Rohfaser an Asche			2,79 %	Gehalt der Rohfaser an Asche			0,42 %
» » » » N			1,56 %	» » » » N			0,12 %

	Glycerin-Methode.				Weender Methode.		
			Heu.				
tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche frei gr.	%	Mittel %	tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,9172	0,7351	38,34	37,75	3,0035	0,7788	25,93	26,28
1,9172	0,7486	39,05		3,0034	0,7789	25,93	
1,9172	0,7000	36,51		3,0037	0,8106	26,99	
1,9172	0,7114	37,11					

Gehalt der Rohfaser an Asche 3,03 % Gehalt der Rohfaser an Asche 1,44 %
» » » » N 0,99 % » » » » N 0,22 %

Wie aus vorstehenden Zahlen ersichtlich, stimmen die einzelnen Analysen bei der Lupine leidlich gut überein. Beim Heu dagegen ist die Uebereinstimmung eine mangelhafte und kaum den bescheidenen Ansprüchen genügend, welche wir an die Genauigkeit der Weender Methode zu stellen berechtigt sind.

Der Stickstoff-Gehalt der nach dem Glycerin-Verfahren abgeschiedenen Rohfaser ist sehr bedeutend; derselbe erreicht nicht nur die von Hönig als Maximum bezeichnete Grenze von 1 %, sondern überschreitet sie bei der eiweissreichen Lupine ganz beträchtlich, so dass die Glycerin-Rohfaser — wie sie der Kürze halber genannt sein möge — 13mal so viel Stickstoff enthält, als die nach der Weender Methode dargestellte. Da mit der Menge des Stickstoffs auch der Fehler wächst, welchen wir bei der Berechnung der Stickstoffsubstanz begehen, so muss der Stickstoff-Reichthum der Glycerin-Rohfaser die Genauigkeit der Resultate entschieden ungünstig beeinflussen.

Das von uns beobachtete Zurückbleiben von Stickstoffsubstanz in der Rohfaser ist nicht vereinbar mit der Angabe von Hönig, dass die Eiweisskörper beim Erhitzen mit Glycerin auf 210° in Wasser und Alkohol lösliche Producte liefern. Aus diesem Grunde habe ich die diesbezüglichen Versuche wiederholt und konnte Folgendes feststellen: Erhitzt man 1 gr. Fibrin mit 60 cbcm. Glycerin, so wird der Eiweisskörper nur sehr schwer angegriffen. Selbst bei 200° schwimmt noch der grösste Theil des Fibrins als klumpige Masse in der Flüssigkeit umher. Beim Steigern der Temperatur auf 210° wird es allerdings bis auf einen kleinen Rest gelöst; vermischt

man jedoch die Lösung mit Wasser oder Alkohol, so erhält man flockige Niederschläge. Die Prüfung von Eieralbumin und Conglutin führte zu denselben Resultaten. Mithin ist schon das Princip der Hönig'schen Methode nicht ganz einwandsfrei.

Das auffälligste Ergebniss, welches obige Zahlen zum Ausdruck bringen, tritt uns in der Thatsache entgegen, dass wir nach dem Glycerin-Verfahren weit mehr Rohfaser erhalten, als nach der Weender Methode. Wenn nun auch die letztere keineswegs als Norm hingestellt werden soll, so ist doch der Unterschied von 11 %, welchen wir beim Heu beobachten, so erheblich, dass wir gezwungen sind, ihn zu Ungunsten der Glycerin-Methode auszulegen. Denn es würde allen unseren Erfahrungen über die Beständigkeit der Cellulose widersprechen, wenn wir annehmen wollten, dass beim Weender Verfahren 11 % Heu-Rohfaser (das sind 40 % der Gesammtmenge) verloren gehen. Viel näherliegend ist die Annahme, dass die Glycerin-Rohfaser nicht nur durch stickstoffhaltige, sondern auch durch stickstofffreie, nicht celluloseartige Stoffe verunreinigt ist. Von der Berechtigung dieser Annahme kann man sich leicht überzeugen, wenn man die Glycerin-Rohfaser mit 1¼ procentiger Schwefelsäure zwei Minuten lang kocht, filtrirt und das Filtrat auf seine Fähigkeit, Kupferoxyd zu reduciren, prüft. Ich erhielt sowohl bei Lupinen- wie Heu-Rohfaser positive Resultate, und zwar war die Menge des Kupferoxyduls recht beträchtlich. Es kann also keinem Zweifel unterliegen, dass sowohl die Eiweisskörper als die stickstofffreien Stoffe durch Erhitzen mit Glycerin nur unvollkommen aufgeschlossen werden, aus diesem Grunde muss von der Verwendung der Glycerin-Methode für die Zwecke der agriculturchemischen Analyse abgesehen werden[1]).

---

[1]) Wenn man genau nach Hönig verfährt, so würde man den Fehler, welcher in der unvollkommenen Aufschliessung der stickstofffreien Stoffe besteht, vermeiden. Hönig erhitzt nämlich den Alkohol-Aether-Niederschlag, «um ein besseres Filtriren zu ermöglichen», mit verdünnter Salzsäure. Ich habe mich vergeblich bemüht, die Hönig'sche Methode in ihrer ursprünglichen Fassung bis zu Ende durchzuführen. Alle darauf gerichteten Versuche scheiterten an der Unmöglichkeit, die schleimigen Reactionsproducte zu filtriren.

Von der Thatsache ausgehend, dass Glycerin viele Metalloxyde löst, habe ich versucht, die Wirkung desselben auf die Nährstoffe der Vegetabilien dadurch energischer zu gestalten, dass ich eine gewisse Menge Kaliumhydroxyd darin auflöste.

Erhitzt man 2 gr. Fibrin, Eieralbumin, Conglutin oder irgend einen andern Eiweisskörper mit einer Lösung von 2 gr. Kali in 60 cbcm. Glycerin, so beobachtet man, dass die Substanz schon bei 140° sehr leicht und vollständig gelöst wird; die resultirende Lösung lässt sich mit Wasser und Alkohol in allen Verhältnissen mischen. — Ebenso liefert Stärke unter den angeführten Bedingungen sehr schnell in Wasser lösliche Producte.

Was die Wirkung des Kalis auf Cellulose selbst betrifft, so wissen wir, dass dieselbe nicht nur von der verdünnten Weender Kalilauge nicht angegriffen wird, sondern auch sehr concentrirten Laugen Widerstand leistet. Nach Hoppe-Seyler[1]) erleidet Papier selbst beim Erhitzen mit stärkster Kalilauge auf 200° «keine erkennbare Aenderung», eine Beobachtung, auf welche G. Lange[2]) sogar eine quantitative Bestimmung der Rohfaser gegründet hat. Mithin lag kein Grund vor, in der Normirung der dem Glycerin zuzusetzenden Kalimenge besonders ängstlich zu sein. Da jedoch vorauszusehen war, dass ein grösserer Ueberschuss von Kali die dem Erhitzen folgenden Operationen nur erschweren würde, so erschien es wünschenswerth, das Minimum von Kali ausfindig zu machen, welches sicher genügt, um ein vollkommenes Aufschliessen der stickstoffhaltigen und stickstofffreien Stoffe zu ermöglichen.

Zu diesem Zwecke wurden in der gelben Lupine Rohfaserbestimmungen nach einer Methode ausgeführt, welche sich von der oben angegebenen nur dadurch unterscheidet, dass statt des reinen Glycerins eine Lösung von Kali in Glycerin zur Anwendung kam, und dass die Temperatur nicht bis 210°, sondern nur bis 180° gesteigert wurde. Die Menge des Kalis

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 77.
[2]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XIV, S. 283.

wurde so bemessen, dass die schwächste Lösung in ihrer Concentration etwa der Weender Kalilauge entsprach, nämlich 0,8 gr. auf 60 cbcm. Glycerin enthielt: die übrigen Lösungen waren stärker.

Ueber die Wirkungsweise dieser Reagentien geben nachstehende Analysenresultate Auskunft:

Rohfaserbestimmungen in gelber Lupine.

0,8 gr. Kali, 60 cbcm. Glycerin.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,8872	0,3451	18,29	
1,8872	0,3432	18,19	18,20
1,8872	0,3418	18,11	

Gehalt der Rohfaser an Asche 2,19 %
» » » » N 0,11 %

1,0 gr. Kali, 60 cbcm. Glycerin.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,8872	0,3220	17,06	
1,8872	0,3152	16,70	16,95
1,8872	0,3224	17,08	

Gehalt der Rohfaser an Asche 3,07 %
» » » » N 0,10 %

1,5 gr. Kali, 60 cbcm. Glycerin.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,8872	0,3248	17,21	
1,8872	0,3179	16,85	17,15
1,8872	0,3282	17,39	

Gehalt der Rohfaser an Asche 2,78 %
» » » » N 0,08 %

2,0 gr. Kali, 60 cbcm. Glycerin.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,8872	0,3238	17,16	
1,8872	0,3161	16,75	17,04
1,8872	0,3250	17,22	

Gehalt der Rohfaser an Asche 3,16 %
» » » » N 0,09 %

0,8 gr. Kali sind demnach noch nicht genügend, um alle nicht celluloseartige Substanz zu zerstören, dagegen ist mit 1,0 gr. Kali bereits das Maximum der Wirkung erreicht; eine weitere Steigerung dieser Menge auf 1,5 gr. und 2,0 gr. ist

auf die Höhe der Resultate ohne bemerkbaren Einfluss. In allen folgenden Fällen ist daher stets auf 60 cbcm. Glycerin 2,0 gr. Kali verwandt worden.

Vergleichen wir ferner die Resultate der Glycerin- mit denen der Glycerin-Kali-Methode, so erkennen wir, dass wir nach letzterer weniger Rohfaser erhalten, und zwar kommen die ermittelten Werthe den nach der Weender erhaltenen sehr nahe.

Der Stickstoffgehalt der isolirten Rohfaser ist ein sehr geringer; der eine von den beiden der Glycerin-Methode anhaftenden Fehlern ist also so gut wie vollständig vermieden.

Die weitere Frage, ob der Rohfaser noch stickstofffreie, reducirende Substanzen beigemengt sind, konnte vorerst bei der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Materials durch directe Versuche nicht entschieden werden. Die nahe Uebereinstimmung der nach dem Weender und dem Glycerin-Kali-Verfahren erhaltenen Resultate machte eine solche Beimischung nicht gerade wahrscheinlich.

Um über diesen Punkt in's Klare zu kommen und ausserdem zu prüfen, ob die Glycerin-Kali-Methode einer allgemeineren Anwendbarkeit fähig ist, wurden mit derselben und gleichzeitig nach dem Weender Verfahren eine Anzahl von Analysen ausgeführt, welche sich auf nachstehende, sehr verschiedenartige Substanzen bezogen:

Glycerin-Kali-Methode.				Weender Methode.			
tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N-u. Asche-frei %	%	Mittel %	tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N-u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
Heu.							
1,9172	0,5143	26,83	26,70	—	—	—	—
1,9172	0,5130	26,76			S. Seite	373.	
1,9172	0,5081	26,50					
Gehalt der Rohfaser an Asche 4,07 %							
» » » » N 0,06 %							
Schafkoth.							
1,8298	0,5594	30 57	30,08	3,0013	0,8589	28,62	28,69
1,8298	0,5334	29,15		3,0027	0,8390	27,94	
1,8298	0,5585	30,52		3,0033	0,8865	29,52	
Gehalt der Rohfaser an Asche 10,44 %				Gehalt der Rohfaser an Asche 3,28 %			
» » » » N 0,16 %				» » » » N 0,44 %			

Glycerin-Kali-Methode. Weender Methode.

Gerstestroh.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %	tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,8668	0,8250	44,19		3,0044	1,1822	39,35	
1,8668	0,8008	42,90	43,76	3,0025	1,1933	39,74	39,51
1,8668	0,8252	44,20		3,0021	1,1842	39,45	

Gehalt der Rohfaser an Asche 3,60 % Gehalt der Rohfaser an Asche 1,10 %
» » » » N 0,07 % » » » » N 0,14 %

Hafer.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %	tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,8566	0,2721	14,66		2,9969	0,3204	10,69	
1,8566	0,2601	14,01	14,21	2,9986	0,3357	11,20	10,92
1,8566	0,2590	13,95		3,0071	0,3268	10,87	

Gehalt der Rohfaser an Asche 4,16 % Gehalt der Rohfaser an Asche 1,29 %
» » » » N 0,07 % » » » » N 0,20 %

Rüben.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %	tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,9048	0,1029	5,40		2,8806	0,1321	4,59	
1,9048	0,0993	5,21	5,33	2,8681	0,1444	5,03	4,96
1,9048	0,1025	5,38		2,8646	0,1503	5,25	

Gehalt der Rohfaser an Asche 19,50 % Gehalt der Rohfaser an Asche 8,36 %
» » » » N — % » » » » N 0,21 %

Kartoffeln.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %	tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,8866	0,0733	3,89		2,8167	0,0516	1,83	
1,8866	0,0646	3,42	3,77	2,8120	0,0503	1,79	1,91
1,8866	0,0756	4,01		2,8146	0,0605	2,11	

Gehalt der Rohfaser an Asche 6,44 % Gehalt der Rohfaser an Asche 6,25 %
» » » » N — % » » » » N 0,22 %

Buchenholz.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %	tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,7818	1,1012	61,80		2,9394	1,8094	61,25	
1,7818	1,0644	59,74	60,36	2,9399	1,7950	61,06	60,39
1,7818	1,0609	59,54		2,9430	1,7319	58,85	

Gehalt der Rohfaser an Asche 1,56 % Gehalt der Rohfaser an Asche 1,22 %
» » » » N 0,05 % » » » » N 0,11 %

Vorstehende Zahlen liefern nur insofern eine Bestätigung der bei der Analyse der Lupinen erhaltenen Resultate, als der Stickstoffgehalt der Rohfaser ein minimaler ist. Da derselbe im Durchschnitt 0,07 % entsprechend 0,5 % Stickstoffsubstanz nicht übersteigt, so würde die Berücksichtigung dieser

Menge bei einem Rohfasergehalt von 20% den letzteren um 0,10% erniedrigen. In Anbetracht der Ungenauigkeiten, mit welchen Rohfaserbestimmungen unvermeidlich verknüpft sind, dürfte diese geringfügige Correctur in vielen Fällen ohne Schaden zu vernachlässigen sein. Es würde dann genügen, die gewogene Rohfaser zu veraschen und die Asche in Abzug zu bringen.

Die einzelnen Analysen weisen ziemlich gute Uebereinstimmung auf. Im Uebrigen stimmen die Resultate der Glycerin-Kali-Methode mit denen des Weender Verfahrens in einigen Fällen annähernd überein, in anderen fallen sie nicht unbeträchtlich höher aus.

Die angeführten Daten lassen einen sicheren Schluss auf die Brauchbarkeit der Glycerin-Kali-Methode noch nicht zu. Die ermittelten Werthe können als dem wahren Rohfasergehalt entsprechend nur dann anerkannt werden, wenn nachgewiesen ist, dass die Rohfaser keine stickstofffreien, nicht celluloseartige Stoffe mehr enthält.

Zum Zwecke dieses Nachweises wurden 0,4 bis 1 gr. Rohfaser mit 25 cbcm. $1^1/_4$ procentiger Schwefelsäure erhitzt und zwar nur bis zum beginnenden Sieden. Die filtrirte Flüssigkeit wurde alkalisch gemacht, mit Seignettesalzlösung versetzt, nochmals filtrirt, zum Kochen erhitzt und mit einigen Tropfen Kupferlösung geprüft. Hierbei trat in allen Fällen Kupfer-Reduction ein. Die Menge des abgeschiedenen Kupferoxyduls war allerdings recht verschieden, bei der Lupine z. B. verschwindend gering, beim Stroh und beim Schafkoth nicht unerheblich. Sehr bemerkenswerth ist es, dass Reduction auch da beobachtet wurde, wo die Resultate der Glycerin-Kali- und Weender Methode ganz oder annähernd übereinstimmten. Die Uebereinstimmung kann also nur dadurch zu Stande gekommen sein, dass sich die Fehler beider Methoden zu demselben Gesammtwerth summirten.

Wollte man aus der beobachteten Kupfer-Reduction auf die Anwesenheit stickstofffreier Stoffe schliessen, so könnte dagegen der Einwand erhoben werden, dass vielleicht die Cellulose selbst das Material für die reducirende Substanz ge-

liefert hat. E. Kern[1]) hat nämlich in Uebereinstimmung mit älteren Beobachtungen von Kühn, Aronstein und Schultze[2]) nachgewiesen, dass Cellulose weder von 1¼ procentiger Schwefelsäure, noch 1¼ procentiger Kalilauge nennenswerth angegriffen wird, dass aber die mit 1¼ procentiger Schwefelsäure gekochte Cellulose nunmehr gegen Kalilauge viel empfindlicher ist. In Folge dessen gehen bei Ausführung der Weender Methode nach Kern's Versuchen 8,9% Rohfaser verloren. In allerneuester Zeit macht Hoffmeister[3]) im Anschluss an seine Studien «über die Formen der Cellulose» darauf aufmerksam, dass die Cellulose durch die verschiedensten Agentien, selbst schon durch Wasserdampf, in der Art modificirt wird, dass sie sich nun in fünfprocentiger und noch verdünnterer Natronlauge auflöst. Durch fortgesetzte Behandlung mit dem Schultze'schen Chlorgemisch kann man Cellulose schliesslich vollständig in die natronlösliche Modification überführen, welche von Hoffmeister auf Vorschlag von B. Tollens Cellulosegummi genannt wird. Diese Thatsachen legen die Annahme nahe, dass die Cellulose auch umgekehrt nach der Behandlung mit Glycerin-Kalilauge von Säuren leichter angegriffen wird, und dass die von uns beobachtete Kupfer-Reduction möglicherweise auf Rechnung dieser gesteigerten Empfindlichkeit zu setzen ist.

Um über die Berechtigung dieses Einwandes zu entscheiden, wurden je 2 gr. schwedisches Filtrirpapier und entfettete Baumwolle mit 60 cbcm. Glycerin und 2 gr. Kali ganz wie bei der Rohfaserbestimmung allmälig auf 180° erhitzt, die alkalische Flüssigkeit durch Waschen mit Wasser entfernt, und die rückständige Masse mit 100 cbcm. 1¼ procentiger Schwefelsäure bis zum Kochen erhitzt. Die Prüfung der so erhaltenen Flüssigkeit auf Reductionsfähigkeit fiel vollständig negativ aus. In zwei andern Fällen wurde das Kochen eine halbe Stunde lang fortgesetzt. Die abgegossene Flüssigkeit

---

[1]) Journal f. Landw., 1876, S. 19.
[2]) Journal f. Landw., 1865, S. 304.
[3]) Landw. Versuchsst., Bd. 39, S. 461.

lieferte jetzt Kupferoyxdul, aber in so geringer Menge, dass es erst nach mehrstündigem Stehen als Anflug auf dem Boden des Gefässes wahrgenommen werden konnte.

Wenn es mithin auch keinem Zweifel unterliegen kann, dass die durch Glycerin-Kalilauge isolirte Rohfaser noch stickstofffreie, nicht celluloseartige Stoffe enthält, so konnte dieser Umstand doch der Methodik der Rohfaserbestimmung keine ernstlichen Schwierigkeiten bereiten. Einerseits liess sich feststellen, dass bereits einmaliges Aufkochen mit sehr verdünnter Säure genügt, um diese Stoffe zu verzuckern und zu lösen, andrerseits wird Cellulose selbst dabei nicht angegriffen.

Um über die Wirkungsweise der Glycerin-Kalilauge und etwaiger nachfolgender Säurebehandlung auch nach der quantitativen Seite hin sichere Aufschlüsse zu erlangen, habe ich einige Versuche mit schwedischem Filtrirpapier angestellt. Dasselbe zeigte einen Wassergehalt von 6,62 % und einen Aschegehalt von 0,38 %, aus der Differenz berechnet sich demnach die Rohfaser zu 93,00 %. Dreimal je 2 gr. dieses Papiers wurden nun genau nach der Glycerin-Kali-Methode analysirt und lieferten folgende Cellulosemengen:

Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,6952	84,76	
1,6774	83,87	84,37
1,6894	84,47	

Von den ursprünglich vorhandenen 93,00 % Cellulose werden 84,37 % wieder erhalten, 8,63 % gehen verloren. Diese Zahl deckt sich mit der von E. Kern für die Weender Methode ermittelten Verlustziffer und lässt erkennen, dass die beiden Methoden in Bezug auf Genauigkeit ungefähr gleichwerthig sind. Sie präcisirt ferner die oben erwähnte Angabe Hoppe-Seyler's und zeigt, dass die auf dieselbe gegründete Rohfaserbestimmung von G. Lange nicht über die Genauigkeitsgrenze des Weender Verfahrens hinausgehen kann. In der That weisen die Einzelresultate der Lange'schen Beleganalysen selbst bei Anwendung von 10 gr. Substanz noch Differenzen von 1 % auf.

Dasselbe Papier wurde noch einmal in der Weise analysirt, dass es vor dem Abfiltriren einmal mit 200 cbcm. 0,6 procentiger Salzsäure aufgekocht wurde. Dabei ergaben sich folgende Cellulosemengen:

Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,6856	84,28	
1,6813	84,07	84,23
1,6866	84,33	

Das Resultat ist dasselbe wie vorher. Durch die Behandlung mit Salzsäure findet, wie nicht anders zu erwarten, ein weiterer Verlust von Rohfaser nicht statt. Die letzten Reste von stickstofffreien Substanzen kann man daher dadurch aus der Rohfaser entfernen, dass man dem zweimaligen Erhitzen mit Wasser ein einmaliges Aufkochen mit 0,6 procentiger Salzsäure folgen lässt. Die in dieser Weise modificirte Glycerin-Kali-Methode wurde nun auf die schon früher analysirten Substanzen angewandt und zwar mit folgendem Resultat:

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
	Lupine.		
1,8872	0,3121	16,54	
1,8872	0,3120	16,53	16,49
1,8872	0,3092	16,38	
Gehalt der Rohfaser an Asche 0,46 %			
» » » » N 0.01 %			
	Heu.		
1,9172	0,4626	24,13	
1,9172	0,4618	24,08	24,11
1,9172	0,4623	24,11	
Gehalt der Rohfaser an Asche 1,25 %			
» » » » N 0,01 %			
	Schafkoth.		
1,8298	0,4402	24,06	
1,8298	0,4533	24,80	24,69
1,8298	0,4614	25,22	
Gehalt der Rohfaser an Asche 4,01 %			
» » » » N 0,07 %			

Gerstestroh.

tr. Sbstnz. gr.	Rohfaser N- u. Asche-frei gr.	%	Mittel %
1,8668	0,7510	40,23	
1,8668	0,7447	39,89	40,06
1,8668	0,7478	40,06	

Gehalt der Rohfaser an Asche 1,22 %
» » » » N 0,06 %

Hafer.

1,8566	0,2089	11,25	
1,8566	0,2058	11.08	11,22
1,8566	0,2105	11,34	

Gehalt der Rohfaser an Asche 1,63 %
» » » » N 0,06 %

Rüben.

1.9048	0,0861	4,52	
1,9048	0,0917	4,81	4,83
1,9048	0,0985	5,17	

Gehalt der Rohfaser an Asche 9,44 %
» » » » N — %

Buchenholz.

1,7818	1,0123	56,81	
1,7818	0,9981	56,02	56,50
1,7818	1,0090	56,68	

Gehalt der Rohfaser an Asche 0,08 %
» » » » N — %

Stellen wir die Mittelwerthe mit den nach der Weender Methode erhaltenen zusammen,

Substanz.	Glycerin-Kali-Methode.	Weender Methode.
Lupine	16,49	16,63
Heu	24,11	26,28
Schafkoth	24,69	28,69
Gerstenstroh	40,06	39,51
Hafer	11,22	10,92
Rüben	4,83	4,96
Buchenholz	56,50	60,39

so können wir bei Lupine, Stroh, Hafer und Rüben vollständige oder doch sehr annähernde Uebereinstimmung con-

statiren, dagegen erhalten wir bei den übrigen Substanzen nach der Glycerin-Kali-Methode weniger Rohfaser; beim Schafkoth erreicht der Unterschied die Höhe von 4%.

Aus den Versuchen mit Filtrirpapier geht hervor, dass Papiercellulose bei der Behandlung mit Glycerin-Kalilauge nicht stärker angegriffen wird, als beim Kochen mit 1¼procentiger Kalilauge und Schwefelsäure. Es wäre jedoch denkbar, dass Cellulose-Arten verschiedener Provenienz sich verschieden verhielten.

Wollten wir von diesem Gesichtspunkt aus die obigen Differenzen erklären, so müssten wir erwarten, dass die typische Holzcellulose auch stärker wirkenden Reagentien erfolgreich Widerstand leistet, während die zarte Rübencellulose bei der Behandlung mit kalihaltigem Glycerin in höherem Maasse der Zerstörung anheimfällt, als beim Kochen mit den Weender Flüssigkeiten. Die Thatsachen entsprechen jedoch diesen Erwartungen keineswegs und bieten ihnen deshalb keinerlei Stütze.

Geht man von der Ansicht aus, dass der in Lösung gehende Antheil der Cellulose bei beiden Methoden gleich ist, so können die vorhandenen Unterschiede nur den stickstofffreien Körpern zur Last gelegt werden. Wir müssen annehmen, dass nach der Glycerin-Kali-Methode die stickstofffreien, nicht celluloseartigen Stoffe vollkommener aufgeschlossen werden, als nach dem Weender Verfahren. Die Eigenschaften der gewöhnlichsten Kohlenhydrate (Zucker, Stärke, Pektinstoffe) lassen sich mit dieser Annahme allerdings kaum vereinbaren, dagegen ist mit der Möglichkeit zu rechnen, dass es sich um diejenigen Kohlenhydrate handelt, welche bei der Hydrolyse Pentaglycosen liefern und von B. Tollens, E. Schulze und deren zahlreichen Mitarbeitern in vielen Vegetabilien nachgewiesen worden sind[1]). Diese Stoffe werden zwar als in Alkalien löslich beschrieben, dass jedoch diese

---

[1]) Sehr bemerkenswerth sind in dieser Beziehung die Beobachtungen, welche E. Schulze an der Rohfaser der Lupinenschalen gemacht hat. Landw. Jahrbücher, Bd. XXI, S. 92.

Lösung keineswegs sehr glatt und vollständig erfolgt, geht z. B. aus den neuesten Angaben von B. Tollens hervor. Derselbe erhielt aus Weizenstroh bei zweitägigem Digeriren desselben mit 5procentiger Natronlauge in der Kälte 11,4% Holzgummi. Dasselbe Stroh lieferte bei sechsstündigem Erhitzen mit 5procentiger Natronlauge eine Ausbeute von 26%[1]). In Uebereinstimmung damit stehen die Erfahrungen, welche wir bei Ausführung der Glycerin-Kali-Methode gemacht haben. Hier gelang es selbst durch Erhitzen mit 3,33procentiger Glycerinkalilauge auf 180° nicht, sämmtliche Nichtcellulose zu entfernen.

Ob vorstehende Erwägungen für den vorliegenden Fall wirklich zutreffen, können erst weitere specielle Untersuchungen entscheiden; vorläufig muss die Frage, welche von beiden Methoden der Wahrheit näher kommende Werthe gibt, noch als eine offene bezeichnet werden. So viel aber steht fest, dass wir berechtigt sind, die Glycerin-Kali-Methode dem Weender Verfahren als mindestens ebenbürtig an die Seite zu stellen. Ein entschiedener Vorzug der ersteren besteht in der Einfachheit und Schnelligkeit ihrer Ausführung. Drei Einzelanalysen, welche man bequem neben einander ausführen kann, nehmen, vom Beginn des Abwägens bis zur Vollendung des Auswaschens gerechnet, etwa drei Stunden in Anspruch. Die neue Methode verdient daher neben dem Weender Verfahren berücksichtigt zu werden. — Ich gebe zum Schluss noch einmal eine kurze Beschreibung derselben:

2 gr. Substanz werden mit 60 cbcm. Glycerin-Kalilauge[2]) unter den früher beschriebenen Cautelen auf 180° erhitzt[3]). Nachdem die Masse auf 140° erkaltet ist, entleert man sie in eine Schale, in welcher sich 200 cbcm. siedendes Wasser befinden.

---

[1]) Landw. Versuchsst., Bd. 39, S. 437.

[2]) Bei öfterem Bedarf empfiehlt es sich, einen grösseren Vorrath der Lauge zu bereiten. Man löst zu diesem Zweck 33 gr. Kaliumhydroxyd in 1 Liter Glycerin.

[3]) Hat man es mit sehr eiweissreichen Substanzen, z. B. Lupinen, zu thun, so tritt hierbei der charakterische Geruch nach Acetamid auf.

Man rührt um, lässt gut absitzen und zieht die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit mit einem mit Leinwand überspannten Heber ab. Man wiederholt das Aufkochen mit 200 cbcm. Wasser noch zweimal, das letzte Mal unter Zusatz von 5 cbcm. 25procentiger Salzsäure. Der Niederschlag wird nun wie bei der Weender Methode weiter behandelt, also mit Alkohol und Aether ausgewaschen etc. Nur wird es in vielen Fällen gestattet sein, den ausserordentlich niedrigen Stickstoffgehalt der Rohfaser zu vernachlässigen.

Zur Chemie der pflanzlichen Zellmembranen.
Zweite Abhandlung.

Von

E. Schulze.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 14. Januar 1892.)

Die Untersuchungen, deren Ergebnisse ich in der nachfolgenden Abhandlung mittheile, schliessen sich an die von E. Steiger, W. Maxwell und mir ausgeführte Arbeit an, welche den Gegenstand einer unter dem gleichen Titel in dieser Zeitschrift[1]) publicirten Abhandlung bildet. Wenn auch in der Einleitung dieser letzteren Abhandlung schon das Ziel dargelegt ist, welches wir bei unseren Arbeiten verfolgten, so erscheint es doch zweckmässig, auch hier noch Einiges darüber zu sagen.

Dass die Zellwandungen verschiedener Pflanzen und Pflanzentheile sich gegen gewisse Reagentien ungleich verhalten, ist den Botanikern schon seit langer Zeit bekannt. Die Deutung dieser Erscheinung war eine wechselnde. Während manche Forscher annahmen, dass eine einheitliche Grundsubstanz (Cellulose) vorhanden sei, welche nur in Folge der Einlagerung der sog. inkrustirenden Substanzen nicht immer das gleiche Verhalten zeige, zweifelten Andere an der Einheitlichkeit der Grundsubstanz und glaubten die Existenz verschiedener Modificationen der Cellulose annehmen zu sollen. Es würde mich zu weit führen, wenn ich die Gründe an-

[1]) Bd. 14, S. 227—273.

geben wollte, welche für die eine oder andere Ansicht geltend gemacht worden sind; ich kann aber auf einen historischen Ueberblick verweisen, welchen R. Reiss[1]) in einer unlängst erschienenen Abhandlung über die Entwicklung unserer Kenntnisse von der Zusammensetzung der Zellmembranen gegeben hat.

Wie aus dem eben Gesagten schon hervorgeht, hat man sich bei Discussion der obigen Frage anfänglich nur auf mikrochemische Beobachtungen gestützt; makrochemisch ist der Gegenstand erst später bearbeitet worden. Auf letzterem Wege wurden Resultate erhalten, welche zu der Annahme zwingen, dass verschiedene Kohlenhydrate in den Zellwandungen sich vorfinden. Von diesen Resultaten seien folgende hier erwähnt: Nach einer von Koch[2]) ausgeführten, später von Wheeler und Tollens[3]) wiederholten Untersuchung liefert das Holzgummi, welches nach Prael[4]) Zellwandbestandtheil ist, beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure Xylose (Holzzucker) und ist demnach verschieden von der bei der Hydrolyse in Traubenzucker übergehenden Cellulose. Eine von E. Steiger und mir[5]) in den Samen von Lupinus luteus entdeckte und mit dem Namen Paragalactan belegte Substanz, welche nach der von Professor C. Cramer ausgeführten Untersuchung sich in den Zellwandungen der Cotyledonen vorfindet, liefert bei der Hydrolyse Galactose und beim Erhitzen mit Salpetersäure Schleimsäure — Producte, welche aus Cellulose bisher niemals erhalten wurden. R. Reiss[6]) fand, dass die «Reserve-Cellulose» der Steinnüsse und mancher anderer Samen

---

[1]) Landw. Jahrbücher, Bd. 18, S. 716—723.

[2]) Pharm. Zeitschrift für Russland, 1886, S. 683 und 768.

[3]) Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 22, S. 1046.

[4]) Pringsheim's Jahrbücher, Bd. 19, Heft 1.

[5]) Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 20 (1887), S. 290; ausführlicher in dieser Zeitschrift, Bd. 14, S. 227. In der ersteren Mittheilung ist aus Versehen angegeben, dass das Paragalactan im Endosperm der Samen von Lupinus luteus (statt «in den Cotyledonen») enthalten sei.

[6]) Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 22 (1889), S. 609; ausführlicher in den Landwirthschaftlichen Jahrbüchern, Bd. 18, S. 711—765. Die Identität der Seminose mit Mannose ist durch die Arbeiten E. Fischer's und seiner Schüler bewiesen worden.

bei Behandlung mit Schwefelsäure in Seminose (Mannose) übergeht und demnach für verschieden von der gewöhnlichen Cellulose zu erklären ist.

Nachdem diese Ergebnisse gewonnen waren, musste es wünschenswerth erscheinen, die bezüglichen Untersuchungen weiter auszudehnen. Denn es konnte von vornherein für wahrscheinlich erklärt werden, dass man Kohlenhydrate, welche verschieden von Cellulose sind, noch bei anderen als den oben genannten Objecten in den Zellwandungen antreffen werde.

Auch musste untersucht werden, ob aus demjenigen Bestandtheil der Zellwandungen, welchen man im Gegensatz zu den oben genannten Stoffen als die eigentliche Cellulose bezeichnen kann, bei der Hydrolyse stets Traubenzucker entsteht oder ob in manchen Fällen statt dieser Zuckerart oder neben derselben andere Glucosen sich bilden; denn die Annahme, dass Cellulose bei der Hydrolyse Traubenzucker liefert, beruht lediglich auf dem Resultat einer mit Baumwolle ausgeführten Untersuchung.

Die Aufgabe, über die Beschaffenheit der kohlenhydratartigen Zellwandbestandtheile durch chemische Untersuchungen Aufschluss zu gewinnen, konnte also von vornherein für eine umfangreiche erklärt werden.

Einen Beitrag zur Lösung dieser Aufgabe sollen die Arbeiten liefern, deren Ergebnisse, insoweit sie nicht schon in unserer ersten Abhandlung enthalten sind, im Folgenden mitgetheilt werden[1]).

Ehe ich diese Mittheilungen beginne, ist Einiges über die Versuchsmethoden vorauszuschicken; auch halte ich es für zweckmässig, gleich hier die Frage zu besprechen, was für Benennungen man den verschiedenen Zellwandbestandtheilen geben soll[2]).

In Bezug auf den ersten Punkt ist Folgendes zu bemerken: Die Isolirung der Zellwandbestandtheile ist in der Regel mit

---

[1]) Eine kurze Mittheilung über die wichtigsten Resultate ist schon in den Berichten der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 2277, gemacht worden.

[2]) Vgl. auch die in der vorstehenden Anmerkung citirte Mittheilung.

sehr grossen Schwierigkeiten verbunden. Wenn auch die Cellulose-Präparate, welche bei successiver Behandlung der fein gepulverten Pflanzensubstanzen mit Aether, Alkohol, verdünnten Säuren, verdünnten Alkalien und Oxydationsmitteln (z. B. dem F. Schulze'schen Reagens) zurückbleiben, zuweilen vielleicht einheitliche Substanzen sind[1]), so trifft dies doch nicht in der Mehrzahl der Fälle zu, wie aus den w. u. von mir zu machenden Mittheilungen zu ersehen ist. Ebenso ungünstig liegt die Sache bei den gegen Säuren und Alkalien wenig widerstandsfähigen Zellwandbestandtheilen. Wenn man z. B. auf die durch Behandlung mit verschiedenen Extractionsmitteln von Fett, Stärkmehl, Eiweissstoffen etc. möglichst befreite Zellfasermasse verdünnte Natronlauge einwirken lässt und die dabei in Lösung gegangenen Zellwandbestandtheile später durch Alkohol und Salzsäure ausfällt, so wird man vermuthlich nur selten einheitliche Substanzen erhalten; gesetzt aber auch, dass Letzteres der Fall sein sollte, so geben doch die äusseren Eigenschaften der so gewonnenen Producte niemals ein sicheres Kriterium dafür, dass einheitliche Stoffe vorliegen. Bei dieser Sachlage ist es von Wichtigkeit, die bei der Hydrolyse der Zellwandbestandtheile entstehenden Glucosen zu untersuchen, um aus der Beschaffenheit derselben Rückschlüsse auf die Natur der in den Zellwandungen enthaltenen Kohlenhydrate machen zu können. Lassen sich diese Glucosen isoliren, so ist es leicht, durch Feststellung ihres specifischen Drehungsvermögens, durch Untersuchung ihrer Osazone u. s. w. über ihre Beschaffenheit in's Klare zu kommen; andernfalls lassen sie sich nach den von Tollens und seinen Schülern ausgeführten Arbeiten an gewissen Umwandlungsproducten (Zuckersäure, Schleimsäure, Furfurol etc.) erkennen.

Nach diesem Verfahren charakterisirt man also die Zellwandbestandtheile durch die bei der Hydrolyse aus ihnen hervorgehenden Glucosen. Man kann dabei in manchen Fällen auch Aufschluss darüber erhalten, ob das Ausgangsmaterial einheitlicher Natur war

---

[1]) Abgesehen von den darin enthaltenen geringen Mengen von Asche und stickstoffhaltigen Substanzen.

oder nicht. Erhält man z. B. aus einem Zellwandbestandtheil nur eine Glucose, so ist es, wenn auch nicht völlig sicher, doch wenigstens wahrscheinlich, dass derselbe eine einheitliche Substanz war[1]). Entsteht ein Gemenge von zwei Glucosen, z. B. von Galactose und Mannose, so war die Muttersubstanz entweder ein Gemenge von zwei Kohlenhydraten, von denen das eine Galactose, das andere Mannose liefert, oder eine chemische Verbindung von zwei solchen Körpern. Das Letztere wird nur für wahrscheinlich erklärt werden können, falls man ungefähr gleiche Gewichtsmengen von Galactose und Mannose erhält; ist dies nicht der Fall und treten vielleicht sogar jene beiden Zuckerarten bei der Verarbeitung verschiedener Proben des gleichen Materials in wechselnden Quantitäten auf, so wird man anzunehmen haben, dass die Muttersubstanz nicht einheitlich war.

Was die Benennung der Zellwandbestandtheile betrifft, so ist die Nothwendigkeit, die verschiedenen kohlenhydratartigen Bestandtheile der Zellwandungen durch die Namen zu unterscheiden, nicht abzuweisen; sie ist auch von botanischer Seite vor Kurzem anerkannt worden[2]). Es erscheint mir nun zweckmässig, die Bezeichnung Cellulose für diejenigen Zellwandbestandtheile zu reserviren, welche gegen heisse stark verdünnte Mineralsäuren widerstandsfähig sind und auch im Uebrigen die in den chemischen Handbüchern für Cellulose gewöhnlich angegebenen Eigenschaften besitzen; für die bei Einwirkung heisser verdünnter Mineralsäuren unter Glucosebildung leicht in Lösung gehenden Zellwandbestandtheile möchte ich dagegen die Gesammtbezeichnung Hemicellulosen[3])

[1]) Für völlig sicher kann dies deshalb nicht erklärt werden, weil ein Anhydrid einer Glucose in mehreren Modificationen existiren kann.

[2]) Und zwar durch R. Reiss, vgl. Landw. Jahrbücher, Bd. 18, S. 762.

[3]) Zu dieser Stoffgruppe ist auch der durch Erhitzen mit stark verdünnter Schwefelsäure in Mannose (Seminose) überführbare Bestandtheil der Steinnüsse und anderer Samen zu rechnen. Da R. Reiss (loc. cit.) diesen Bestandtheil als «Reserve-Cellulose» bezeichnet hat, so würde ich für die ganze Stoffgruppe diesen Namen vorschlagen, falls es nicht unsicher wäre, ob die Glieder der Gruppe in den Pflanzen sämmtlich die Rolle von Reservestoffen spielen.

vorschlagen. Dass man die Existenz mehrerer Modificationen der Cellulose anzunehmen hat, ist aus den w. u. zu machenden Mittheilungen zu ersehen; dass mehrere Hemicellulosen existiren, ergibt sich schon aus den in unserer ersten Abhandlung mitgetheilten Versuchsergebnissen. Bei Benennung der einzelnen Glieder dieser letzteren Stoffgruppe kann man den bisherigen Usus beibehalten, nach welchem man die bei der Hydrolyse in Galactose, Arabinose, Xylose etc. übergehenden amorphen Kohlenhydrate[1]) als Galactane, Arabane, Xylane etc. bezeichnet und zur Unterscheidung der verschiedenen Modificationen den Namen die Buchstaben α, β, γ oder die Worte «Meta» und «Para» vorsetzt. Liefert eine Substanz gleichzeitig Galactose und Arabinose, bezw. Galactose und Mannose u. s. w., so kann man sie als Galacto-Araban, bezw. Galacto-Mannan u. s. w. oder mit ähnlichen Namen bezeichnen. Um die Namen in dieser Weise bilden zu können, muss man also wissen, was für Glucosen aus den Hemicellulosen entstehen.

Zum Beschluss der Einleitung sei noch erwähnt, dass ich bei Ausführung dieser Untersuchungen von den Herren Dr. E. Steiger, Dr. A. Likiernik und E. Winterstein unterstützt wurde. Ich spreche den Genannten für die mir geleistete Hilfe hier meinen Dank aus.

I. Zur Kenntniss der Hemicellulosen.

Die in unserer ersten Abhandlung gemachten Mittheilungen beziehen sich fast ausschliesslich auf diejenigen Zellwandbestandtheile, welche ich jetzt als Hemicellulosen bezeichne. Die Untersuchungen über diese Substanzen sind inzwischen von uns erweitert worden. Die dabei erhaltenen Versuchsergebnisse theile ich im Folgenden mit.

A. Die Hemicellulosen der Leguminosen-Samen.

Wie in unserer ersten Abhandlung mitgetheilt worden ist, enthalten die Samen der gelben Lupine (Lupinus luteus),

[1]) Als «Kohlenhydrate» bezeichne ich hier nicht nur diejenigen Substanzen, welche Tollens «wahre Kohlenhydrate» nennt, sondern auch die Pentaglucosen und die bei der Hydrolyse in letztere übergehenden Substanzen.

der Sojabohne (Soja hispida), der Erbse (Pisum sativum) und der Ackerbohne (Faba vulgaris oder Vicia faba) eine von uns mit dem Namen Paragalactan belegte Hemicellulose, welche bei der Hydrolyse Galactose liefert. Dass aber aus derselben bei diesem Process neben letzterer Zuckerart auch noch eine Pentaglucose sich bildet, konnte daraus geschlossen werden, dass das Paragalactan beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure eine kirschrothe Flüssigkeit und bei der Destillation mit Schwefelsäure eine beträchtliche Furfurol-Quantität liefert.

Es schien angezeigt, noch einen Versuch zur Isolirung dieser Pentaglucose zu machen. Für diesen Zweck bedurften wir einer grösseren Quantität des Rohproducts. Zur Darstellung desselben kochten wir den aus ca. 2 Kilogramm entschälter Lupinensamen erhaltenen «paragalactanhaltigen Rückstand»[1]) mit $1^1/_2$ procentiger Schwefelsäure und verarbeiteten die dabei gewonnene zuckerhaltige Flüssigkeit in der früher beschriebenen Weise[2]). Es resultirte ein Glucose-Syrup, welcher nach längerem Stehen sich in eine wenig gefärbte Krystallmasse verwandelte. Dieses Rohproduct wurde längere Zeit im Wasserbade mit so viel 95procentigem Weingeist erhitzt, dass nur ein Theil desselben sich löste. Die nach dem Erkalten vom Rückstand abgegossene Lösung wurde unter eine Glasglocke über concentrirte Schwefelsäure gestellt. Sie lieferte beim langsamen Verdunsten fast farblose Zucker-Krystalle, welche fractionsweise gesammelt wurden. Die beiden ersten Fractionen gaben beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure nur schwache Rothfärbung; bei der dritten Fraction dagegen trat diese Reaction sehr stark auf, bei der vierten

---

[1]) Mit diesem Namen haben wir in unserer ersten Abhandlung die Zellfaser-Masse bezeichnet, welche übrig bleibt, wenn man die auf's Feinste zerriebenen und mittelst Aethers entfetteten Lupinensamen mit kalter sehr verdünnter Kalilauge behandelt und sodann mit Wasser auswäscht. Es sei erwähnt, dass wir in diesem Falle das Auswaschen sehr sorgfältig ausführten und dass bei demselben, um das Alkali möglichst vollständig zu entfernen, schliesslich etwas Essigsäure zugesetzt wurde.

[2]) Vgl. die erste Abhandlung, S. 234 und 235.

wieder schwächer. Die Untersuchung im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat lieferte folgende Resultate:

I. Fraction. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 2,0218 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte (nach 24stündigem Stehen) bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 47,2° nach rechts.

II. Fraction. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 2,003 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 48,0° nach rechts.

III. Fraction. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,9756 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingurgen 53,5° nach rechts.

Aus diesen Versuchsergebnissen berechnen sich für α_D folgende Zahlen:

I. Fraction: $\alpha_D = +80{,}8°$,
II. » » $= +82{,}9°$,
III. » » $= +93{,}6°$.

Die erste Fraction stimmte also im Drehungsvermögen mit Galactose überein; die zweite wich nur wenig davon ab. Die dritte Fraction zeigte dagegen ein beträchtlich höheres Drehungsvermögen. Da dieselbe zugleich mit Phloroglucin und Salzsäure sehr starke Rothfärbung gab, so ist anzunehmen, dass sie reich an einer Pentaglucose war. Doch enthielt sie daneben auch noch Galactose; denn beim Erhitzen mit Salpetersäure lieferte sie Schleimsäure. Die Ausbeute an letzterer betrug aber nur 16,2 %[1]), woraus sich berechnen lässt, dass dem bezüglichen Präparat 21,6 % Galactose beigemengt waren. Für ein Gemenge von 21,6 % Galactose und 78,4 % Arabinose würde $[\alpha]_D = +99°$ sein[2]). Diese Zahl ist allerdings noch beträchtlich höher, als die von uns gefundene; bedenkt man jedoch, dass letztere Zahl für ein nicht völlig reines Zucker-Präparat erhalten wurde, dessen

---

[1]) Die Bestimmung der Schleimsäure-Ausbeute wurde nach der von Kent und Tollens (Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 227, S. 223) gegebenen Vorschrift ausgeführt.

[2]) Bei der Berechnung ist für Arabinose $[\alpha]_D = +104°$, für Galactose $= +81°$ gesetzt.

Drehungsvermögen durch Beimengungen (eine geringe Aschenquantität etc.) herabgedrückt wurde, so wird man es doch auf Grund jenes Versuchsergebnisses für wahrscheinlich erklären können, dass die neben Galactose sich vorfindende Pentaglucose Arabinose war.

Da das Präparat, welches für vorstehenden Versuch diente, nicht in so bedeutender Quantität vorlag, dass es nach wiederholtem Umkrystallisiren noch für die Untersuchung im Polarisationsapparat genügt hätte, so stellten wir in der oben beschriebenen Weise noch ein zweites Präparat in etwas grösserer Quantität dar, krystallisirten dasselbe aus Weingeist um und untersuchten es sodann im Polarisationsapparat. Dabei ergab sich folgendes Resultat: Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,956 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte nach 24stündigem Stehen im 200 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur 51,4° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +90,9^\circ$.

Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferte dieses Präparat 34,1 % Schleimsäure[1]; es kann demnach 45,5 % Galactose enthalten haben. Dass es sehr reich an einer Pentaglucose war, liess sich an der starken Reaction erkennen, welche es mit Phloroglucin und Salzsäure gab. Für ein Gemenge von 45,5 % Galactose und 54,5 % Arabinose würde $[\alpha]_D = +93,7^\circ$ sein. Diese Zahl übersteigt nicht bedeutend die von uns gefundene ($[\alpha]_D = +90,9^\circ$). Es darf daher für sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass unser Präparat neben Galactose Arabinose enthielt.

Aus den schwächer drehenden Fractionen der in diesen Versuchen erhaltenen Zucker-Krystallisationen liess sich durch wiederholtes Umkrystallisiren aus verdünntem Weingeist mit Leichtigkeit reine Galactose gewinnen. Wir verwendeten eine Probe derselben zur Ermittelung der Schleimsäure-Ausbeute — wobei wir im Allgemeinen nach der von Kent und Tollens (loc. cit.) gegebenen Vorschrift verfuhren, aber die

[1]) 1,956 gr. des Zuckerpräparates lieferten 0,6670 gr. Schleimsäure (die Bestimmung wurde nach der von Kent und Tollens gegebenen Vorschrift ausgeführt).

Flüssigkeit etwas stärker, nämlich bis auf $^1/_6$ des ursprünglichen Volumens, eindunsteten. Aus 2,646 gr. Substanz erhielten wir 1,810 gr. = 79,0% Schleimsäure. Die gleiche Ausbeute erhielten Gans und Tollens[1]) aus Galactose, als sie die Flüssigkeit stärker als auf $^1/_3$ des ursprünglichen Volumens durch Eindampfen concentrirten.

Nach dem Auskrystallisiren der für die vorstehenden Versuche verwendeten Zuckerpräparate aus der weingeistigen Rohzuckerlösung blieb ein nicht bedeutendes Quantum einer dickflüssigen Mutterlauge übrig. Die Prüfung derselben auf Mannose gab ein ganz negatives Resultat; weder durch essigsaures Phenylhydrazin (in der Kälte), noch durch Bleiessig liess sich eine Fällung erhalten. Dass diese Mutterlauge ein wenig Traubenzucker einschloss, muss als möglich bezeichnet werden; denn sie lieferte nach dem von Gans und Tollens[2]) angegebenen Verfahren eine geringe Menge eines Salzes, welches im Aussehen und Verhalten dem sauren zuckersauren Kalium glich; doch war die Quantität desselben so unbedeutend, dass eine Identificirung der Zuckersäure mit Hilfe einer analytischen Bestimmung nicht möglich war[3]).

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse machen es höchst wahrscheinlich, dass bei der Hydrolyse der von uns als Paragalactan bezeichneten Substanz neben Galactose noch Arabinose entsteht; es würde demnach sich empfehlen, den Namen dieser Substanz in Paragalactoaraban umzuändern.

Dass diese Substanz vielleicht kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge zweier Kohlenhydrate (eines Galactans und eines Arabans) ist, wurde schon in unserer ersten Abhandlung hervorgehoben. Für die Zwecke, welche wir bei unserer Untersuchung verfolgten, ist die Entscheidung dieser Frage nur von untergeordneter Bedeutung.

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 249, S. 221.

[2]) Ebendaselbst.

[3]) Eine geringe Traubenzuckermenge kann bei Einwirkung der verdünnten Schwefelsäure auf die Cellulose entstanden sein.

B. Die Hemicellulosen der Weizen- und Roggenkleie.

Die Samen des Weizens (Triticum vulgare) und des Roggens (Secale cereale) enthalten in den beim Vermahlen der Körner in die Kleie übergehenden Zellschichten eine Hemicellulose, welche bei der Hydrolyse Arabinose liefert. Eine kurze Mittheilung darüber ist von E. Steiger und mir in den Berichten der D. Chem. Gesellschaft[1]) gemacht worden; ausführlichere Angaben über diesen Theil unserer Untersuchung[2]) sind im Folgenden zu finden.

Wenn man fein zerkleinerte Weizenkleie mittelst Aethers entfettet, durch Malzextract vom Stärkmehl, durch Behandlung mit kalter 0,25—0,5procentiger Kali- oder Natronlauge so vollständig wie möglich von den Eiweisssubstanzen befreit und sodann gut mit Wasser auswäscht, so bleibt eine Masse, welche ausser Zellhäuten nur minimale Mengen anderer Bestandtheile enthält[3]). Beim Erhitzen mit einer verdünnten Mineralsäure liefert sie eine Lösung von beträchtlichem Zuckergehalt. Wir kochten ein grösseres Quantum dieser Zellfasermasse[4]) 3 Stunden lang am Rückflusskühler mit 3procentiger Schwefelsäure. Nach Beendigung des Erhitzens wurde die vom Ungelösten abfiltrirte Flüssigkeit durch Eintragen von Baryumcarbonat von der Schwefelsäure befreit und sodann bei gelinder Wärme vorsichtig zum Syrup eingedunstet. Letzteren extrahirten wir mehrmals mit heissem 95procentigem Wein-

---

[1]) Bd. 23, S. 3110. In dieser Mittheilung sind auch die zur Isolirung der beim Kochen der Weizenkleie mit verdünnter Schwefelsäure entstehenden Zuckerarten von Gudkow (Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 3, S. 425) und von Stone und Tollens (Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 249, S. 239) früher gemachten Versuche erwähnt worden.

[2]) Derselbe ist zum grösseren Theil von E. Steiger ausgeführt worden.

[3]) Herr Professor C. Cramer hatte die Güte, eine Probe der in der beschriebenen Weise aus russischer Weizenschalenkleie erhaltenen Masse im hiesigen botanischen Institut untersuchen zu lassen. Es zeigte sich, dass dieselbe nur aus Zellhäuten bestand.

[4]) Erwähnt sei, dass das für diesen Versuch verwendete Material nicht entfettet worden war.

geist. Den weingeistigen Extract überliessen wir über concentrirter Schwefelsäure der langsamen Verdunstung. An den Wänden der Schale schieden sich nach einigen Tagen warzenförmige Krystallaggregate ab, welche aus 95procentigem Weingeist umkrystallisirt wurden. Die so gewonnene, vollkommen weisse und aschenfreie Substanz, welche wir im Folgenden als Präparat I bezeichnen wollen, zeigte die Eigenschaften der Arabinose. Sie krystallisirte in kleinen Prismen. Beim Erhitzen mit Phloroglucin und verdünnter Salzsäure gab sie eine kirschrothe Flüssigkeit. Die Untersuchung im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,8925 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte nach längerem Stehen bei 15° C. im 200 mm.-Rohr 57,0° nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +104,2°$.

Für reine Arabinose wird bekanntlich $[\alpha]_D = +104$ bis 105° angegeben.

Das Osazon, dargestellt durch Erhitzen der wässrigen Zuckerlösung mit essigsaurem Phenylhydrazin auf 70—80°, schmolz bei 158—159°, stimmte also im Schmelzpunkt mit dem Arabinosazon überein.

Aus der von der ersten Krystallisation (Präparat I) abgeflossenen Mutterlauge stellten wir eine zweite Krystallisation dar, indem wir diese Mutterlauge in heissem Weingeist aufnahmen und die Lösung langsam verdunsten liessen. Die Mutterlauge von der zweiten Krystallisation lieferte, in gleicher Weise behandelt, eine dritte Krystallisation. Die Untersuchung der so erhaltenen Krystalle (Präparat II und III) im Polarisationsapparat lieferte folgende Resultate[1]):

Präparat II. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,9331 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur 24,3° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +43,4°$.

---

[1]) Bei diesen sowohl wie bei allen später mitgetheilten Bestimmungen wurden die endgiltigen Ablesungen erst gemacht, nachdem das Drehungsvermögen der Lösungen constant geworden war.

Präparat III. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,8004 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur 25,0° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +48,0°$.

Diese beiden Präparate besassen also ein bedeutend niedrigeres Drehungsvermögen, als das Präparat I.

In der oben beschriebenen Weise haben wir später noch eine andere Weizenkleie von abweichender Beschaffenheit[1]) verarbeitet. Aus der dabei erhaltenen Zuckerlösung wurden gleichfalls drei, nach einander zur Krystallisation gelangende, Präparate dargestellt. Mit Phloroglucin und Salzsäure gaben dieselben sämmtlich stark roth gefärbte Lösungen. Die Untersuchung im Polarisationsapparat gab folgende Resultate:

Präparat I. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,994 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 60° S.-V. nach rechts.

Präparat II. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,9902 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 58,5° S.-V. nach rechts.

Präparat III. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,9736 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 30,8° S.-V. nach rechts.

Daraus berechnen sich für $[\alpha]_D$ folgende Werthe:

Präparat I: $[\alpha]_D = +104,1°$,
» II: » $= +101,7°$,
» III: » $= +54,0°$.

Das erste Präparat besass also das Drehungsvermögen der Arabinose: das zweite drehte nur wenig schwächer und kann demnach für ziemlich reine Arabinose erklärt werden. Das dritte Präparat dagegen besass ein weit geringeres Drehungsvermögen.

Nach dem auf die Weizenkleie angewendeten Verfahren vermochten wir auch aus Roggenkleie einen krystallisirten Zucker darzustellen, welcher beim Erhitzen mit Phloroglucin

---

[1]) Man kann dieselbe als eine Schalen-Kleie bezeichnen.

und Salzsäure eine kirschrothe Lösung gab. Die Untersuchung von zwei, nach einander auskrystallisirten, Präparaten im Polarisationsapparat gab folgende Resultate:

Präparat I. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,9928 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur 59,3° S.-V. nach rechts.

Präparat II. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,9790 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 39,8° S.-V. nach rechts.

Daraus berechnen sich für $[\alpha]_D$ folgende Werthe:

Präparat I: $[\alpha]_D = +103,0°$,
» II: » $= + 69,6°$.

Es darf angenommen werden, dass das Präparat I nahezu reine Arabinose war. Im Präparat II muss neben derselben eine beträchtliche Menge einer weit schwächer drehenden Zuckerart sich vorgefunden haben.

Es erschien wünschenswerth, über die Natur der neben Arabinose in diesen Präparaten noch enthaltenen schwächer drehenden Zuckerart, bezw. Zuckerarten, Aufschluss zu gewinnen. Die bezüglichen Versuche ergaben zunächst, dass Galactose nicht vorhanden war; denn bei der Oxydation durch Salpetersäure entstand keine Schleimsäure. Auch Vorhandensein von Traubenzucker war nicht anzunehmen; denn eine Probe eines schwächer drehenden Präparates entwickelte mit Hefe nur eine minimale Gasmenge[1]. Letztere Thatsache machte es wahrscheinlich, dass neben Arabinose die durch Hefe gleichfalls nicht vergährbare Xylose sich vorfand, und der Beweis dafür war denn auch beizubringen. Als wir die aus der Weizen- und Roggenkleie erhaltenen schwächer drehenden Präparate vereinigten und dann aus 95procentigem Weingeist umkrystallisirten, schieden sich zuerst warzenförmige Krystallaggregate aus, welche von einem später sich ausscheidenden Product anderen Aussehens mechanisch getrennt werden konnten. Bei der Untersuchung

---

[1]) Der Versuch wurde nach der von Tollens und Stone (Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 249, S. 257) gegebenen Vorschrift ausgeführt.

im Polarisationsapparat lieferten die Krystalle folgendes Resultat: Eine wässrige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,851 gr. Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr nach längerem Stehen[1]) 12,5° S,-V. nach rechts (bei 16½° C.). Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +25,5°$.

Das Präparat wurde hierauf noch einmal aus Weingeist umkrystallisirt. Die Untersuchung im Polarisationsapparat lieferte nun folgendes Resultat: Eine wässrige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,3725 gr. Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr nach längerem Stehen 4,5° S.-V. nach rechts (bei 17,5° C.). Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +20,9°$. Diese Zahl liegt dem für das Drehungsvermögen der Xylose angegebenen Werth ($[\alpha]_D = +18$ bis $+19°$) so nahe, dass die Annahme, es habe Xylose (wohl noch verunreinigt durch eine geringe Arabinosemenge) vorgelegen, für eine berechtigte erklärt werden muss, zumal da auch die übrigen Eigenschaften des bezüglichen Präparats dieser Annahme entsprachen. Denn dasselbe gab beim Kochen mit Phloroglucin und Salzsäure eine kirschrothe Flüssigkeit, lieferte beim Erhitzen mit 12procentiger Salzsäure viel Furfurol und war unvergährbar durch Hefe. Der Schmelzpunkt der Krystalle lag bei 148—150°[2]).

Während durch die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse das Vorhandensein von Arabinose und Xylose bewiesen wird, lieferte die Prüfung auf andere Zuckerarten negative Resultate. Für diese Prüfung wurde zur Ergänzung der oben schon mitgetheilten Versuchsergebnisse noch eine Zuckerlösung verwendet, welche aus einer von russischem Weizen stammenden Schalenkleie in folgender Weise dargestellt worden war: Die durch Behandlung mit Malzextract und darauf folgende Extraction mit 0,25procentiger Natronlauge vom Stärkmehl und von den Eiweissstoffen möglichst befreite, dann gut mit Wasser ausgewaschene Kleie wurde

---

[1]) Die frisch bereitete Lösung drehte weit stärker; der Zucker zeigte also starke Mehrdrehung (Multirotation).

[2]) Tollens (Landw. Versuchsstationen, Bd. 39, S. 439) fand den Schmelzpunkt der Xylose neuerdings bei 150—153°, nach früheren Bestimmungen bei 144—145°.

2 Stunden lang am Rückflusskühler mit 3 procentiger Schwefelsäure gekocht. Die vom Ungelösten abfiltrirte Flüssigkeit wurde sodann so weit verdünnt, dass sie noch ungefähr 2% Schwefelsäure enthielt, und nun noch 3 Stunden lang im Sieden erhalten, dann mittelst Baryts von der Schwefelsäure befreit und zum Syrup verdunstet. Letzteren extrahirten wir mit kochendem Weingeist, filtrirten den Extract vom Ungelösten ab und dunsteten ihn im Wasserbade ein. Dieses Rohproduct, welches beim Stehen bald Krystalle abschied, gab bei der Prüfung auf Mannose ein ganz negatives Resultat. Auch Galactose liess sich nicht nachweisen (bei der Oxydation durch Salpetersäure entstand keine Schleimsäure). Beim Zusammenbringen mit Hefe lieferte dieses Product nur eine minimale Gasmenge; demnach ist anzunehmen, dass es keine nachweisbare Menge von Traubenzucker[1]) einschloss. In Uebereinstimmung damit steht es, dass unter den bei Oxydation von 5—6 gr. desselben entstandenen Producten Zuckersäure nicht aufgefunden werden konnte.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ergibt sich, dass in den Zellwandungen der Weizen- und Roggenkleie Anhydride der Arabinose und der Xylose sich vorfinden. Es ist denkbar, dass diese Substanzen zu einem Complex vereinigt sind, welchen man als Arabanoxylan bezeichnen könnte; für mindestens ebenso wahrscheinlich aber muss es erklärt werden, dass in den genannten Zellwandungen zwei Kohlenhydrate, ein Araban[2]) und ein Xylan, neben einander sich vorfinden. Es scheint, dass das Erstere in weit grösserer Menge vorhanden war, als das Letztere; denn wir erhielten beim Erhitzen der Zellfasern mit verdünnter Schwefelsäure mehr Arabinose als Xylose.

---

[1]) Das Vorhandensein einer sehr geringen Traubenzuckermenge, entstanden durch Einwirkung der verdünnten Schwefelsänre auf die neben den Hemicellulosen sich vorfindende Cellulose, kann als nicht unwahrscheinlich bezeichnet werden.

[2]) Man kann diese Substanz, da sie in Wasser unlöslich ist, als Metaraban (oder Metaaraban) bezeichnen — unter Hinweis darauf, dass der Name Metaarabinsäure für eine in Wasser unlösliche Modification der Arabinsäure gebraucht wird.

Gegen heisse verdünnte Mineralsäuren sind diese Kohlenhydrate sehr wenig widerstandsfähig[1]; man muss sie daher zu den Hemicellulosen rechnen. Auch durch Alkalien und alkalische Erden lassen sie sich in Lösung bringen. Erhitzt man die durch Behandlung mit Aether, Malzextract und kalter sehr verdünnter Natronlauge von Fett, Stärkmehl und Eiweissstoffen möglichst befreite Zellfaser mit verdünnter Natronlauge oder mit Kalkmilch und versetzt die filtrirte Lösung mit Salzsäure (oder Essigsäure) und Weingeist, so erhält man eine starke Fällung, welche nach dem Abfiltriren, Auswaschen mit absolutem Alkohol und Trocknen über Schwefelsäure eine wenig gefärbte, in Wasser lösliche Masse bildet; man kann sie durch wiederholtes Ausfällen aus der wässrigen Lösung reinigen. Die Elementaranalyse eines in dieser Weise dargestellten lufttrocknen Präparats[2] gab folgende Resultate:

1. 0,2294 gr. Substanz (nach Abzug der Asche in Rechnung gestellt) gaben 0,3374 gr. CO^2 und 0,1432 gr. H^2O.
2. 0,2314 gr. Substanz (excl. Asche) gaben 0,3412 gr. CO^2 und 0,1500 gr. H^2O.
3. 1,00 gr. Substanz gab nach der Methode von Kjeldahl 0,0031 gr. N.
4. 1,6156 gr. Substanz verloren, bei 105° bis zur Constanz des Gewichts getrocknet, 0,1932 gr. an Gewicht (= 11,95% H^2O). Beim darauf folgenden Trocknen bei 110° erfolgte nur noch eine minimale Gewichtsabnahme.
5. 0,4246 gr. Substanz gaben 0,0026 gr. = 0,61% Asche.

---

[1]) M. vgl. die w. u. gemachten Mittheilungen.

[2]) Die Analyse wurde von E. Winterstein ausgeführt. Die für das lufttrockne Präparat erhaltenen Resultate wurden in bekannter Weise auf die Trockensubstanz umgerechnet (von der bei der Verbrennung erhaltenen Wassermenge wurde das hygroskopische Wasser abgezogen u. s. w.). Verwendet man ein lufttrocknes Präparat für die Analyse, so wird ein Fehler vermieden, welcher dadurch verursacht werden kann, dass bei 100° oder einer noch höheren Temperatur getrocknete Substanzen solcher Art sehr schnell wieder Wasser anziehen; letzteres kann während des Abwägens und vor dem Einbringen in die Verbrennungsröhre erfolgen. Sind aber die Präparate — wie es auch hier der Fall war — aus wässriger Lösung durch Weingeist gefällt, so muss man Sorge tragen, dass sie vor der Verwendung vollständig von anhängendem Weingeist befreit werden.

Aus diesen Zahlen berechnen sich für die Zusammensetzung der aschenfreien Trockensubstanz Werthe, welche recht gut auf die Formel $C^5H^8O^4$ oder ein Multiplum derselben stimmen[1]). Die folgende Zusammenstellung zeigt dies:

	Gefunden:		Berechnet für
	1.	2.	$(C^5H^8O^4)^x$:
C	45,55 %	45,67 %	45,45 %.
H	6,37 »	6,67 »	6,06 »
O	—	—	48,49 »

Nimmt man an, dass die im analysirten Präparat noch vorhandene geringe Stickstoffmenge Eiweisssubstanzen angehörte, so würde der Gehalt des Präparats an solchen Substanzen sich auf ungefähr 2 % berechnen. Es braucht kaum gesagt zu werden, dass ein so geringer Eiweissgehalt die Elementarzusammensetzung des bezüglichen Präparats nur sehr wenig beeinflusst (für den eiweissfreien Theil des Präparats würde sich ein um ein Geringes niedrigerer C- und H-Gehalt berechnen).

Ueber die Eigenschaften dieses Präparats ist noch Folgendes anzugeben: Beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salz-

[1]) Eine Formel, welche sich zur Formel der Pentaglucosen verhält, wie $C^6H^{10}O^5$ zur Formel der Hexaglucosen. Von vornherein würden vielleicht andere Formeln für wahrscheinlicher erklärt werden können. Kennt man auch nicht die Constitution solcher amorpher Kohlenhydrate, so ist es doch wohl das Wahrscheinlichste, dass bei ihrer Bildung mehrere Glucose-Molecüle unter Wasseraustritt sich vereinigen. Es könnten also z. B. 6 Mol. Pentaglucose unter Austritt von 5 H^2O sich vereinigen, oder 10 Mol. Pentaglucose unter Austritt von 9 H^2O. Im ersteren Falle würde $C^{30}H^{50}O^{25}$ (= 44,44 % C, 6,17 % H und 49,39 % O), im letzteren Falle $C^{50}H^{82}O^{41}$ (= 44,84 % C, 6,13 % H und 49,03 % O). So lange aber für Substanzen, welche man als polymere Anhydride der Hexaglucosen betrachtet, die Formel $(C^6H^{10}O^5)^x$ angewendet wird, ist auch für polymere Anhydride der Pentaglucosen die Formel $(C^5H^8O^4)$ als berechtigt zu betrachten (vgl. auch Tollens, Berl. Ber., Bd. 24, S. 3584). — Eine Schwierigkeit bei Ermittelung der Elementarzusammensetzung solcher Kohlenhydrate beruht übrigens noch darin, dass man nicht genau weiss, ob beim Erhitzen derselben auf eine über 100° liegende Temperatur nur das Hydratwasser weggeht oder ob dabei Zersetzungen eintreten.

säure gab es eine kirschrothe Flüssigkeit. In Wasser war es löslich; die Lösung reagirte sauer und erwies sich bei der Untersuchung im Polarisationsapparat als linksdrehend. Eine wässrige Lösung, welche in 100 cbcm. 1,815 gr. Substanz (wasserfrei) enthielt, drehte im 100 mm.-Rohr 6,5° S.-V. nach links (bei 16°). Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = -123,7°$. Für einen zweiten Versuch diente eine Lösung, welche in 100 cbcm. 3,352 gr. Substanz enthielt. Dieselbe drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 12,5° nach links. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = -122,9°$.

Es ist anzunehmen, dass die aus der alkalischen Lösung durch Säure und Weingeist gefällte Substanz, auf welche die vorstehenden Mittheilungen sich beziehen, ein Umwandlungsproduct des in Wasser unlöslichen Kohlenhydrats war, welches sich in den Zellwandungen vorfindet. Dieses Product ist ohne Zweifel verwandt mit der von Scheibler[1]) aus Rübenmark dargestellten Metapektinsäure oder Arabinsäure, aber nicht damit identisch; denn es zeigt viel stärkere Linksdrehung als die Letztere[2]).

C. Allgemeines über die Hemicellulosen.

Kohlenhydrate, welche bei Einwirkung heisser verdünnter Mineralsäuren unter Glucosebildung leicht in Lösung gehen, finden sich ausser bei den Leguminosensamen, sowie den Weizen- und Roggenkörnern noch bei manchen anderen Pflanzensamen in den Zellwandungen vor[3]). Auch das in Mannose (Seminose) überführbare Kohlenhydrat, welches R. Reiss (loc. cit.) in den Steinnüssen entdeckt hat und als «Reservecellulose» bezeichnet, lässt sich schon durch Erhitzen mit stark verdünnten Mineralsäuren in Lösung bringen.

---

[1]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 1, S. 58 und 108.

[2]) Auch gibt die aus Rübenmark dargestellte Metapektinsäure nach den neueren Untersuchungen bei der Oxydation Schleimsäure und schliesst demnach eine Galactan-Gruppe ein.

[3]) Vgl. meine Mittheilung in den Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 2277.

Alle diese Kohlenhydrate möchte ich bis auf Weiteres als Hemicellulosen bezeichnen[1]). Sie unterscheiden sich von der Cellulose hauptsächlich durch ihre weit geringere Widerstandsfähigkeit gegen verdünnte Säuren. Zur Ergänzung der über diesen Punkt in unserer ersten Abhandlung gemachten Mittheilungen theile ich hier noch folgende Versuchsergebnisse mit: Die Rückstände, welche bei Behandlung möglichst fein zerriebener Lupinensamen, Steinnüsse und Weizenkleie mit Aether, kalter 0,25—0,5procentiger Kalilauge, bezw. Malzextract und Kalilauge, und darauf folgendem Auswaschen mit Wasser übrig blieben, wurden 1 Stunde lang mit $1^1/_4$ procentiger Schwefelsäure gekocht, das Ungelöste abfiltrirt, mit Wasser vollständig ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Bei dieser Behandlung erlitten jene Rückstände die folgenden Substanzverluste (angegeben in Procenten der Trockensubstanz):

	Gewichtsverlust:
Rückstand der Lupinensamen	40%.
» » Steinnüsse	25 »
» » Weizenkleie	56 »

Die vom Ungelösten abfiltrirten Flüssigkeiten enthielten, nachdem sie noch 2 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht worden waren, sehr bedeutende Glucosequantitäten; so fanden sich z. B. in den von den Lupinensamen und den Steinnüssen erhaltenen Lösungen ungefähr 35%, bezw. 20% Glucose

[1]) Es ist möglich, dass die Substanzen, welche ich zu dieser Stoffgruppe rechne, sich nicht in allen hier in Betracht kommenden Punkten völlig gleich verhalten — dass es demnach später erforderlich werden wird, in dieser Stoffgruppe wieder Unterabtheilungen zu bilden. Darüber müssen weitere Untersuchungen entscheiden. Jedenfalls aber ist es für die Behandlung des vorliegenden Gegenstandes erforderlich, die kohlenhydratartigen Zellwandbestandtheile nach irgend einem Princip zu classificiren, und es dürfte vielleicht das von mir gewählte Eintheilungsprincip ein nicht ungeeignetes sein. Bemerkt sei noch, dass ich die Bezeichnung «paragalactanartige Substanzen», welche ich früher hin und wieder für diese Stoffe gebrauchte, nur als eine vorläufige betrachtet habe.

vor (berechnet in Procenten der Trockensubstanz des Untersuchungsmaterials)[1].

Dass man durch mehrstündiges Kochen mit 1 procentiger Schwefelsäure oder 1 procentiger Salzsäure die Hemicellulose der Lupinensamen vollständig in Lösung bringen kann, ist aus den in unserer ersten Abhandlung gemachten Mittheilungen zu ersehen.

Cellulose-Präparate, welche von den Hemicellulosen befreit und mit F. Schulze'schem Reagens behandelt worden waren, verloren bei 1 stündigem Kochen mit 1¼ procentiger Schwefelsäure und darauf folgendem Auswaschen mit Wasser 0,9—2,96 %, im Durchschnitt 1,96 %, an Gewicht[2]; es wurde also von denselben ein ungleich geringerer Theil gelöst, als von den Hemicellulosen. Dabei ist noch zu berücksichtigen, dass möglicherweise diese Präparate durch die Behandlung mit Schulze'schem Reagens eine Veränderung erlitten hatten, welche ihre Widerstandsfähigkeit gegen verdünnte Mineralsäuren verringerte[3].

Auch kalte verdünnte Salzsäure wirkt lösend auf die Hemicellulosen. Als wir die in der oben beschriebenen Weise aus entschälten Lupinensamen und aus Weizenkleie erhaltenen Rückstände, welche ich im Folgenden der Kürze halber als

---

[1]) Eine genaue Bestimmung des Glucose-Gehalts dieser Flüssigkeiten war nicht möglich, da das Reductionsvermögen der in ihnen sich vorfindenden Glucose-Gemenge für die Fehling'sche Lösung nicht genau bekannt waren.

[2]) Die bezüglichen Versuche wurden von E. Winterstein ausgeführt. Eine detaillirte Beschreibung derselben soll an anderer Stelle erfolgen. Dass auch Papier- und Baumwoll-Cellulose beim Kochen mit stark verdünnter Schwefelsäure nur wenig angegriffen wird, ist längst bekannt.

[3]) Das Gleiche gilt wenigstens für das Verhalten der Cellulose gegen Natronlauge. Nach den Versuchen Koch's (Pharmaceut. Zeitschrift für Russland, 1886, S. 683) wird Cellulose, nachdem sie durch Behandlung mit Schulze'schem Reagens von den incrustirenden Substanzen befreit ist, z. B. durch kalte 10 procentige Natronlauge sehr stark angegriffen, vorher dagegen nicht. M. vgl. auch die Mittheilungen W. Hoffmeister's, Landw. Versuchsstationen, Bd. 39, Heft 6.

Zellfasern bezeichnen will, mit 10procentiger Salzsäure (vom spec. Gewicht 1,05) 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur in Berührung liessen, die vom Ungelösten abfiltrirten Lösungen sodann stark mit Wasser verdünnten und 1—2 Stunden lang kochten, erhielten wir zuckerreiche, die Fehling'sche Lösung stark reducirende Flüssigkeiten. Als die salzsauren Extracte unmittelbar nach der Filtration mit viel Weingeist versetzt wurden, entstanden starke Fällungen, welche nach dem Abfiltriren und Trocknen weisse zerreibliche Massen bildeten. Steinnüsse gaben jedoch bei gleicher Behandlung an die Salzsäure nur eine geringe Menge eines in Glucose überführbaren Kohlenhydrats ab. Diese Verschiedenheit im Verhalten ist vielleicht zum Theil dadurch bedingt worden, dass die Steinnüsse nicht sehr fein gepulvert werden konnten.

Auch organische Säuren greifen manche Hemicellulosen sehr stark an. Als wir die Zellfaser aus Lupinensamen und Weizenkleie circa 12 Stunden lang mit Eisessig im Wasserbade auf 90° erhitzten, wurden Flüssigkeiten erhalten, welche die Fehling'sche Lösung stark reducirten, nachdem sie vom Ungelösten abfiltrirt und sodann unter Zusatz von Salzsäure einige Stunden lang am Rückflusskühler erhitzt worden waren.

Dass die Hemicellulosen gegen Oxydationsmittel wenig widerstandsfähig sind, geht schon aus einigen in unserer ersten Abhandlung gemachten Angaben hervor. Wie dort mitgetheilt wurde, wird z. B. beim Erhitzen der Lupinensamen-Zellfaser mit Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,15 im Wasserbade das in dieser Zellfaser enthaltene Paragalactan (Paragalactoaraban) unter Entwickelung rother Dämpfe und unter Schleimsäurebildung zerstört, während Cellulose zurückbleibt. Nach Versuchen, welche wir mit der Lupinensamen- und Weizenkleie-Zellfaser anstellten, wirkt auch das von Lifschütz[1]) angegebene Gemisch von verdünnter Salpetersäure und Schwefelsäure schon in der Kälte zerstörend auf

---

[1]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 1186.

die Hemicellulosen. Beweisend dafür ist ausser dem starken Gewichtsverlust, welchen jene Zellfasern bei solcher Behandlung erlitten, noch der Umstand, dass die Rückstände beim Erhitzen mit Phloroglucin und Schwefelsäure nicht mehr eine kirschrothe Flüssigkeit gaben.

Auch das von W. Hoffmeister[1]) bei seiner Cellulosebestimmungs-Methode angewendete Gemisch von verdünnter Salzsäure (vom spec. Gewicht 1,05) und Kaliumchlorat zerstört die Hemicellulosen der Lupinensamen und der Weizenkleie, wenn nicht ganz vollständig, so doch jedenfalls zum grössten Theil[2]).

Durch Erhitzen mit verdünnten Alkalien lassen sich die Hemicellulosen, soweit mir bekannt ist, sämmtlich in Lösung bringen; sie werden dabei in lösliche Modificationen verwandelt, welche den Charakter schwacher Säuren zu besitzen scheinen. Auch kalte 5procentige Natronlauge wirkt lösend, jedoch weit langsamer. Die Fällungen, welche in den auf letzterem Wege erhaltenen Extracten durch Weingeist und Salzsäure hervorgebracht wurden, waren zum Theil unlöslich in Wasser.

Schliesslich ist noch die Frage zu besprechen: Wie verhalten sich die Hemicellulosen gegen Kupferoxydammoniak und gegen die zum Nachweis der Cellulose verwendeten Jod-Reagentien?

Die Beantwortung dieser Frage wäre leicht, wenn man die Hemicellulosen unverändert aus den Zellwandungen isoliren könnte. Dazu fehlen aber im Allgemeinen die Mittel; man muss sich also, wenn man obige Frage beantworten will, im Wesentlichen auf Beobachtungen stützen, welche direct an den Zellfasern gemacht worden sind.

Mikrochemische Untersuchungen, welche theils von Herrn Prof. C. Cramer in Zürich, theils unter Anleitung des Ge-

---

[1]) Landw. Jahrbücher, Bd. 17, S. 239.

[2]) Ausführlichere Mittheilungen über die bezüglichen Versuche sollen von uns an anderer Stelle gemacht werden.

nannten von Dr. E. Steiger ausgeführt wurden[1]), zeigten, dass Zellwandungen, welche Hemicellulosen enthielten, durch Kupferoxydammoniak nur wenig angegriffen wurden; erst nachdem sie mit verdünnter Salzsäure gekocht worden waren, lösten sie sich in dem genannten Reagens. Makrochemische Versuche mit den nämlichen Objecten führten zu dem gleichen Resultate[2]). Auf Grund dieser Versuchsergebnisse haben wir es in unserer ersten Abhandlung für wahrscheinlich erklärt, dass die Hemicellulosen in Kupferoxydammoniak unlöslich seien und dass durch ihr Vorhandensein auch die Cellulose in gewissem Grade vor der Einwirkung des genannten Reagens geschützt werde.

Es zeigte sich aber, dass kurzes, nur fünf Minuten langes Erhitzen mit stark verdünnter Salzsäure, welches zur völligen Lösung der Hemicelluloson nicht ausreichen kann, die Zellwandungen löslich in Kupferoxydammoniak machte; auch 24stündiges Behandeln mit kalter 10procentiger Salzsäure hatte den gleichen Effect[3]). Es scheint demnach, dass nur irgend welche Nebenumstände in den von uns untersuchten Objecten die Hemicellulosen unlöslich in Kupferoxydammoniak machten (was bekanntlich auch bei der Cellulose zuweilen der Fall ist). In Uebereinstimmung damit steht es, dass R. Reiss[4]) die zu den Hemicellulosen zu rechnende «Reserve-Cellulose» in manchen Objecten löslich in Kupferoxydammoniak fand, in anderen dagegen nicht. Auch sei noch angeführt, dass das diesen Stoffen nahestehende Amyloid, welches man durch kochendes Wasser aus den Zellwandungen extrahiren und isoliren kann, in dem genannten Reagens löslich ist[5]).

Demnach weichen wohl die Hemicellulosen in Wirklichkeit im Verhalten gegen Kupferoxydammoniak nicht von der

---

1) Vgl. unsere erste Abhandlung, S. 245 und 266.

2) Wie ebendaselbst mitgetheilt worden ist.

3) Für diesen Versuch wurde Zellfaser aus Lupinensamen verwendet.

4) Landw. Jahrbücher, Bd. 18, S. 747, nebst Anmerk. 3.

5) Nach Versuchen, welche E. Winterstein in meinem Laboratorium ausführte. In kaltem Wasser ist das Amyloid nicht löslich.

Cellulose ab. Bekanntlich lässt sich auch die Letztere aus vielen Zellwandungen durch dieses Reagens nicht direct extrahiren; sie wird darin erst löslich, nachdem man auf die Zellwandungen gewisse Reagentien hat einwirken lassen[1]).

Was das Verhalten der Hemicellulosen gegen die Jod-Reagentien betrifft, so sei angeführt, dass z. B. die Zellfaser aus Lupinensamen, deren Gewinnung oben beschrieben ist, durch Chlorzinkjod blau[2]) gefärbt wird. Es wäre denkbar, dass diese Färbung nur der in der Zellfaser enthaltenen Cellulose zukäme, nicht aber der daneben vorhandenen Hemicellulose (dem Paragalactan oder Paragalactoaraban). Doch wurde durch Chlorzinkjod auch ein Product blau gefärbt, welches ich erhielt, indem ich jene Zellfaser mit kalter 5procentiger Natronlauge behandelte und den vom Ungelösten abfiltrirten Extract mit Weingeist und Salzsäure versetzte. Ferner gibt R. Reiss (loc. cit.) an, dass die Reservecellulose durch Jod und Schwefelsäure, sowie durch Chlorzinkjod blau gefärbt werde. Es scheint also, dass man diese Reagentien als Gruppenreagentien für Cellulosen und Hemicellulosen ansehen muss.

Die in Wasser löslichen Producte, welche aus den mit heisser verdünnter Natronlauge aus Lupinen- und Weizenkleien-Zellfaser durch Weingeist und Salzsäure gefällt wurden, gaben aber mit den Jod-Reagentien keine Blaufärbung.

II. Zur Kenntniss der Cellulosen.

Wie in der Einleitung dargelegt worden ist, verstehe ich unter der Bezeichnung Cellulose nur Zellwandbestandtheile, welche widerstandsfähig gegen heisse, stark verdünnte Mineralsäuren sind. Dieselben bleiben also zurück, wenn man mit Hilfe der genannten Agentien die Hemi-

---

[1]) Vgl. z. B. die Angaben von Kabsch (Pringsheim's Jahrbücher, Bd. 3, S. 376).

[2]) Die durch Chlorzinkjod hervorgebrachte Färbung bezeichne ich hier nach dem Vorgange Anderer als blau, obwohl sie wohl eigentlich blauviolett ist.

cellulosen in Lösung bringt; sie finden sich demgemäss auch in der sog. Rohfaser vor, d. h. in dem Rückstande, welcher übrig bleibt, wenn man eine zerkleinerte Pflanzensubstanz nach einander mit einer verdünnten Mineralsäure und einem verdünntem Alkali kocht, und auf diese Behandlung noch Auswaschen mit Wasser, |Alkohol und Aether folgen lässt (bekanntlich schliesst die Rohfaser auch noch incrustirende Substanzen, sowie geringe Mengen von stickstoffhaltigen Stoffen und Aschenbestandtheilen ein).

A. Welche Glucosen entstehen bei Hydrolyse der Cellulose?

In den chemischen Handbüchern wird angegeben, dass die Cellulose bei der Hydrolyse Traubenzucker liefert. Diese Angabe stützt sich aber lediglich auf die Resultate der mit Baumwolle ausgeführten Versuche[1]). Nachdem in den Hemicellulosen Zellwandbestandtheile entdeckt worden sind, welche Galactose, Mannose und Pentaglucosen liefern, musste es für erforderlich erklärt werden, auf's Neue zu untersuchen, was für Glucosen bei Hydrolyse der Cellulose entstehen. Liefert dieselbe stets Traubenzucker? Und entsteht aus ihr nur diese Zuckerart oder bilden sich neben Letzterer in manchen Fällen noch andere Glucosen?

Um einen Beitrag zur Lösung dieser Frage zu liefern, haben wir zehn Cellulosen verschiedener Herkunft, welche zur Entfernung der Hemicellulosen zuvor anhaltend mit einer verdünnten Mineralsäure gekocht worden waren, mit Hilfe starker Schwefelsäure in Zucker übergeführt und Letzteren sodann einer näheren Untersuchung unterworfen. Jene zehn Cellulosen waren dargestellt aus dem Holz der Rothtanne, aus Roggenstroh, aus Weizenkleie, aus Rothkleepflanzen, aus entschälten Lupinen- und Erbsensamen, aus den Schalen der Lupinensamen, aus Kaffee-

---

[1]) Flechsig (diese Zeitschr., Bd. 7, S. 523) hat nachgewiesen, dass die Baumwoll-Cellulose bei der Hydrolyse Traubenzucker liefert.

bohnen, aus Cocosnuss- und Sesamkuchen[1]). Von der Kaffeebohnen-Cellulose kamen zwei Präparate, von der Cocoskuchen-Cellulose drei Präparate (aus verschiedenen Mustern des Rohmaterials dargestellt) zur Verwendung. Die Holz-Cellulose, welche wir aus einer Papierfabrik bezogen, war nach dem Sulfit-Verfahren dargestellt; vor der Verwendung haben wir sie einige Stunden lang mit verdünnter Salzsäure gekocht. Zur Darstellung der übrigen Cellulose-Präparate wurden die möglichst fein zerriebenen Rohmaterialien mittelst Aether entfettet und sodann zur Entfernung der Eiweissstoffe wiederholt mit kalter, sehr verdünnter Kali- oder Natronlauge (0,25—0,5 procentig) extrahirt. Nachdem die alkalische Lösung durch Auswaschen mit Wasser entfernt worden war, kochten wir die rückständige Masse zur Entfernung der Hemicellulosen vier bis fünf Stunden lang mit 4—5 procentiger Salzsäure oder 2—3 procentiger Schwefelsäure. Dann wurden alle Objecte mit Ausnahme von dreien mit dem F. Schulze'schen Reagens (verdünnter Salpetersäure und Kaliumchlorat)[2]) ungefähr 14 Tage lang bei Zimmertemperatur behandelt, sodann mit Wasser ausgewaschen, hierauf ungefähr eine Stunde lang mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit[3]) auf 60° erwärmt, schliesslich zuerst mit Wasser, dann mit Weingeist ausgewaschen und über

---

[1]) Im Folgenden gebe ich noch die botanischen Namen der Pflanzen an, denen die Cellulosen entstammten:

Rothtanne (Picea excelsa),
Roggen (Secale cereale),
Weizen (Triticum vulgare),
Rothklee (Trifolium pratense),
Gelbe Lupine (Lupinus luteus),
Erbse (Pisum sativum),
Kaffee (Coffea arabica),
Cocospalme (Cocos nucifera),
Sesam (Sesamum indicum).

[2]) Auf 1 Th. Substanz wurden in der Regel 12 Gew.-Th. Salpetersäure vom spec. Gew. 1,15 und 0,8 Gew.-Th. Kaliumchlorat angewendet.

[3]) 50 cbcm. conc. Ammoniakflüssigkeit und 950 cbcm. Wasser.

Schwefelsäure oder — falls es thunlich war — an der Luft getrocknet.

Die in solcher Weise erhaltenen Präparate färbten sich mit Chlorzinkjod sämmtlich intensiv blau oder blauviolett und lösten sich in Kupferoxydammoniak bis auf einen geringen Rückstand; auch in einem Gemisch von concentrirter Salzsäure und Chlorzink waren sie löslich. Dass nicht absolut reine Cellulose vorlag, deren Darstellung auf dem angegebenen Wege ja überhaupt kaum möglich ist, liess sich erkennen, indem man Proben der Präparate mit Chlorzinkjod befeuchtete und sodann unter das Mikroskop brachte; es waren darin noch einzelne gelb gefärbte Partikelchen zu erblicken.

Unterlassen wurde die Behandlung mit dem Schulze-schen Reagens bei den Cellulosen aus entschälten Lupinen- und Erbsensamen, sowie bei dem einen Kaffeecellulose-Präparat; denn dieselben besassen, ohne dieser Behandlung unterworfen zu sein, schon eine solche Beschaffenheit, dass sie für unsere Zwecke brauchbar waren.

Bei Ueberführung der Cellulose in Glucose befolgten wir im Wesentlichen die von Flechsig[1]) gegebene Vorschrift: 1 Gew.-Th. Cellulose wurde in eine Mischung von 5 Gew.-Th. conc. Schwefelsäure und 1,7 Gew.-Th. Wasser unter häufigem Umschütteln eingetragen. Wir liessen das Gemenge 24 Stunden lang stehen; nach Verlauf dieser Zeit hatte sich die Cellulose bis auf einen nicht sehr beträchtlichen Rest[2]) aufgelöst. Wir setzten nun das mehrfache Volumen Wasser zu, liessen wieder einige Stunden stehen und beseitigten dann das Ungelöste durch Filtration. Das Filtrat verdünnten wir so stark mit Wasser, dass es nur noch $2^1/_2$ % Schwefelsäure enthielt, und erhielten es sodann 5—6 Stunden lang am Rückflusskühler im Sieden. Nach Beendigung des Erhitzens wurde die Flüssigkeit durch Eintragen von reinem Barythydrat von der Schwefel-

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 523.

[2]) Alle unsere Cellulose-Präparate hinterliessen bei der eben beschriebenen Behandlung einen solchen Rückstand. Das Gleiche beobachtete Flechsig (loc. cit.) bei der Baumwolle.

säure befreit[1]), sodann filtrirt und hierauf in einer flachen Schale im Wasserbade bei gelinder Wärme zum Syrup eingedunstet.

Die in solcher Weise dargestellten syrupförmigen Glucose-Präparate lieferten fast ausnahmslos Krystalle, meistens schon im Verlauf einer Woche, in einigen Fällen aber erst nach vielen Monaten (die Verzögerung der Krystallisation wurde, wie gleich mitgetheilt werden soll, durch einen Gehalt der bezüglichen Präparate an Mannose bedingt). Es musste nun zunächst festgestellt werden, ob diese Präparate Traubenzucker enthielten. Zum Nachweis dieser Zuckerart war die Reindarstellung desselben nicht unbedingt erforderlich; es genügte zu zeigen, dass die syrupförmigen Rohproducte beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin ein im Schmelzpunkt mit dem Glucosazon übereinstimmendes Product und bei der Oxydation durch Salpetersäure Zuckersäure lieferten[2]). Wir haben uns aber mit diesem Nachweis nicht begnügt, sondern in sechs Fällen den Zucker durch Krystallisation rein oder annähernd rein dargestellt und auf sein specifisches Drehungsvermögen, sowie auf sein Verhalten gegen Hefe untersucht. Letzteres geschah nach der von Tollens und

---

[1]) Doch liessen wir den einzudampfenden Zuckerlösungen (den Filtraten vom Barymsulfat) eine ganz schwach saure Reaction; andernfalls färben sich die Lösungen etwas stärker während des Eindampfens (wenigstens tritt dies ein, sobald die Reaction der Flüssigkeiten in's Alkalische umschlägt). Die in den Lösungen dann noch sich vorfindende geringe Schwefelsäuremenge wurde durch Barytzusatz entfernt, nachdem die Lösungen auf ein geringes Volumen eingedunstet worden waren.

[2]) Das Entstehen von Zuckersäure kann für sich allein nicht als ein genügender Beweis für das Vorhandensein von Traubenzucker betrachtet werden, seitdem wir durch die Arbeiten E. Fischer's und seiner Schüler wissen, dass auch die Gulose Zuckersäure liefert (vgl. Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 527 und 534). Erhält man aber ausser Zuckersäure auch ein im Schmelzpunkt mit dem Glucosazon übereinstimmendes Osazon, so ist damit bewiesen, dass Traubenzucker vorhanden war; denn das Osazon der Gulose hat einen weit niedrigeren Schmelzpunkt.

Stone[1]) gegebenen Vorschrift (der Versuch wurde also stets quantitativ ausgeführt). Zur Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens diente ein Soleil-Ventzke'scher Polarisationsapparat. Behufs Darstellung der Zuckersäure lösten wir 5 gr. krystallisirten Zucker oder ein dieser Gewichtsmenge ungefähr entsprechendes Quantum von Zuckersyrup in 30 cbcm. Salpetersäure vom specif. Gew. 1,15 und verdunsteten die Flüssigkeit im Wasserbade bei gelinder Wärme zum Syrup; aus Letzterem stellten wir dann saures zuckersaures Kalium dar. Nachdem dieses Salz durch Umkrystallisiren gereinigt war, wurde es zur Darstellung des neutralen Silbersalzes verwendet. Alle diese Operationen wurden nach den von Gans und Tollens[2]) gegebenen Vorschriften ausgeführt. Das Silbersalz diente, nachdem es im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet worden war, zur Silberbestimmung.

Zur Prüfung auf Mannose lösten wir Proben der syrupförmigen Rohproducte oder der von den krystallisirten Producten abgepressten Mutterlaugen in wenig Wasser und fügten eine Lösung von essigsaurem Phenylhydrazin sowie Bleiessig zu. War Mannose vorhanden, so mussten beide Reagentien Fällungen geben.

Die Prüfung auf Galactose liess sich mit derjenigen auf Traubenzucker verbinden; wenn behufs der Gewinnung von Zuckersäure die Glucosepräparate mit Salpetersäure erhitzt wurden, so mussten sie, wenn Galactose vorhanden war, Schleimsäure liefern. Falls für Gewinnung der Zuckersäure ein krystallisirtes Zuckerpräparat benutzt worden war, so musste selbstverständlich zur Prüfung auf Galactose auch noch die Mutterlauge verwendet werden. Gleich an dieser Stelle sei mitgetheilt, dass wir an keinem unserer Präparate Galactose mit Sicherheit nachzuweisen vermochten. Allerdings lieferten einige Rohproducte und Mutterlaugen beim

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 249, S. 257. Man bringt eine Auflösung von $^1/_4$ gr. Zucker mit etwas Hefe und einer Hefenährlösung über Quecksilber in eine graduirte Glasröhre und ermittelt, wie viel Gas sich nach Verlauf einer gewissen Zeit entwickelt hat.

[2]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 249, S. 218.

Erhitzen mit Salpetersäure Ausscheidungen einer schwer löslichen Substanz in geringer Quantität; die Untersuchung derselben ergab aber, dass sie fast ausschliesslich aus anorganischem Material bestanden.

Zur Prüfung auf Pentaglucosen benutzten wir das Phloroglucin-Salzsäure-Reagens. Mit demselben erhielten wir nur bei einem der krystallisirten Producte eine schwache Reaction; bei den Mutterlaugen war das Resultat stets negativ. Da aber aus den w. u. mitgetheilten Versuchsergebnissen zu schliessen ist, dass einige Mutterlaugen eine Pentaglucose (Xylose) enthielten, so wird man annehmen müssen, dass unter solchen Verhältnissen, wie sie bei den Mutterlaugen sich finden, d. h. also beim Vorhandensein grösserer Quantitäten von Traubenzucker, die Reaction auf Pentaglucosen mit dem oben genannten Reagens nicht empfindlich ist.

Im Folgenden theile ich die in in dieser Weise bei Untersuchungen einzelner Glucose-Präparate erhaltenen Resultate in möglichster Kürze mit.

1. Glucose aus Tannenholz-Cellulose. Das syrupförmige Rohproduct verwandelte sich binnen einer Woche in eine Krystallmasse, welche nur wenig Mutterlauge einschloss. Die Krystalle wurden durch Abpressen zwischen Fliesspapier von der Mutterlauge möglichst befreit und hierauf aus Wasser, dann aus Weingeist, schliesslich aus Methylalkohol umkrystallisirt. Bei Ermittelung des specifischen Drehungsvermögens wurde für das so gewonnene Product folgendes Resultat erhalten: Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 2,0103 gr. Substanz (wasserfrei) enthielt, drehte nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur 30,55° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +52,55°$. Dieses Resultat stimmt sehr gut auf Traubenzucker; denn nach Tollens[1]) ist für reinen wasserfreien Traubenzucker in 10procentiger wässriger Lösung $[\alpha]_D = +52,74°$.

Gegen Hefe verhielt sich unser Zucker genau so wie Traubenzucker. Er ging eben so rasch in Gährung über

---

[1]) Handbuch der Kohlenhydrate, S. 45.

wie Letzterer und lieferte annähernd die gleiche Gasmenge, wie eine der Quantität nach gleiche Probe der genannten Zuckerart.

Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferte unser Zucker Zuckersäure. Das Silbersalz der Letzteren gab bei der Analyse folgende Resultate:

a) 0,6835 gr. Substanz hinterliessen beim Glühen 0,3470 gr. = 50,77 % Ag.
b) 0,5590 gr. Substanz hinterliessen 0,2840 gr. = 50,81 % Ag.

Die Theorie verlangt 50,94 % Ag.

Diese Resultate machen es zweifellos, dass der vorliegende Zucker Traubenzucker war. Die Prüfung auf Galactose, Mannose und Pentaglucosen, für welche das krystallisirte Rohproduct und die Mutterlauge verwendet wurden, gab negative Resultate.

2. Glucose aus Roggenstroh-Cellulose. Das Rohproduct verhielt sich in Bezug auf die Krystallisation ebenso wie das Vorige. Die Krystalle wurden einmal aus Wasser, dann aus Weingeist, schliesslich aus Methylalkohol umkrystallisirt. Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens gab dann folgendes Resultat: Eine wässrige Lösung, welche 0,983 gr. Substanz (wasserfrei) in 10 cbcm. enthielt, drehte im 100 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur 14,8° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 52,10°$ [1]).

Gegen Hefe verhielt sich der Zucker aus Roggenstroh-Cellulose ganz ebenso wie Traubenzucker. Beim Erhitzen mit Salpetersäure lieferte er Zuckersäure. Das Silbersalz der Letzteren gab bei der Analyse folgende Zahlen:

a) 0,8350 gr. Substanz gaben 0,4225 gr. = 50,60 % Ag.
b) 0,5300 » » » 0,2667 » = 50,32 » »

Die Theorie verlangt 50,94 % Ag.

Demnach war auch der krystallisirte Zucker aus Roggenstroh-Cellulose Traubenzucker. Die Prüfung auf Galactose und Mannose lieferte negative Resultate. Das krystallisirte

[1]) Für ein nur aus Weingeist, nicht aus Methylalkohol umkrystallisirtes Präparat wurde unter den gleichen Versuchsbedingungen $[\alpha]_D = + 51,9°$ gefunden.

Rohproduct gab mit dem Phloroglucin-Salzsäure-Reagens eine schwach roth gefärbte Flüssigkeit; bei dem durch Umkrystallisiren gereinigten Product trat diese Erscheinung nicht mehr auf.

3. Glucose aus Weizenkleien-Cellulose. Das Rohproduct verhielt sich in Bezug auf die Krystallisation ebenso wie die Vorigen. Die Untersuchung des einmal aus Weingeist umkrystallisirten Zuckers im Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,9987 gr. Substanz (wasserfrei) enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur 29,9° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +51,8°$. Es darf angenommen werden, dass der Zucker erst nach nochmaligem Umkrystallisiren ein Resultat gegeben haben würde, welches dem für reinen Traubenzucker gefundenen noch näher liegt.

Gegen Hefe verhielt sich das Product genau so wie Traubenzucker. Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferte es Zuckersäure. Die Analyse des zuckersauren Silbers gab folgende Resultate:

a) 0,3770 gr. Substanz gaben 0,1910 gr. = 50,67 % Ag.
b) 0,7370 » » » 0,3710 » = 50,34 » »

Die Theorie verlangt 50,94 % Ag.

Demnach war auch dieses Product Traubenzucker. Die Prüfung auf Galactose, Mannose und Pentaglucosen gab negative Resultate.

4. Glucose aus Rothklee-Cellulose. Das Rohproduct verhielt sich in Bezug auf die Krystallisation ebenso wie die Vorigen. Die Untersuchung des zuerst aus Wasser, dann aus Weingeist, schliesslich aus Methylalkohol umkrystallisirten Zuckers im Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 2,138 gr. Substanz (wasserfrei) enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 32,5° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +52,67°$[1]).

---

[1]) Für ein nur aus Weingeist, nicht aus Methylalkohol umkrystallisirtes Präparat wurde unter den gleichen Versuchsbedingungen $[\alpha]_D = +51,0°$ gefunden.

Gegen Hefe verhielt sich das krystallisirte Product wie Traubenzucker. Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferte es Zuckersäure. Die Analyse des zuckersauren Silbers lieferte folgende Resultate:

a) 0,4010 gr. Substanz gaben 0,2040 gr. = 50,88 % Ag.
b) 0,4530 » » » 0,2290 » = 50,56 » »

Die Theorie verlangt 50,94 % Ag.

Auch dieses Product war also Traubenzucker. Die Prüfung auf Galactose, Mannose und Pentaglucosen lieferte negative Resultate.

5. Glucose aus Lupinensamen-Cellulose[1]). Das Rohproduct verhielt sich in Bezug auf die Krystallisation wie die Vorigen. Die Untersuchung des nur einmal aus Weingeist umkrystallisirten Zuckers im Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,7518 gr. Substanz (wasserfrei) enthielt, drehte bei 21,5° C. im 200 mm.-Rohr 25,7° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +50,8°$. Es darf angenommen werden, dass der Zucker nach nochmaligem Umkrystallisiren ein Drehungsvermögen gezeigt haben würde, welches demjenigen des reinen Traubenzuckers noch näher liegt. Der bezügliche Versuch ist von uns nicht ausgeführt worden, weil wir diesen Zucker nur in geringer Quantität zur Verfügung hatten (von der Lupinensamen-Cellulose war nur eine relativ geringe Menge verarbeitet worden). In Folge davon haben wir noch das Osazon des Zuckers dargestellt, indem wir die wässrige Lösung des Zuckers mit essigsaurem Phenylhydrazin eine halbe Stunde lang im Wasserbade erhitzten, das dabei erhaltene gelbe krystallinische Product abfiltrirten, mit Wasser wuschen, nach dem Abpressen zwischen Fliesspapier mit Weingeist anrührten, wieder abfiltrirten und abpressten, schliesslich aus 80procentigem

[1]) Wie w. o. schon angegeben worden ist, war dieses Cellulose-Präparat aus entschälten Samen dargestellt. Das Gleiche gilt für die Cellulose aus Erbsensamen.

Weingeist umkrystallisirten. Das so dargestellte Osazon schmolz bei 202° [1]).

Gegen Hefe verhielt sich der Zucker wie Traubenzucker. Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferte er Zuckersäure. Die Analyse des zuckersauren Silbers lieferte folgendes Resultat:

0,4460 gr. Substanz gaben 0,2265 gr. = 50,78% Ag.

Die Theorie verlangt 50,94% Ag.

Demnach war auch dieses Product Traubenzucker. Die Prüfung auf Galactose, Mannose und Pentaglucosen lieferte negative Resultate.

6. Glucose aus Erbsensamen-Cellulose. Das Rohproduct begann sehr bald zu krystallisiren. Wir haben eine Trennung der Krystalle von der Mutterlauge nicht ausgeführt, sondern uns mit dem Nachweis begnügt, dass das Rohproduct bei der Oxydation durch Salpetersäure Zuckersäure lieferte. Das Silbersalz der Letzteren gab bei der Anlayse folgende Resultate:

a) 0,4350 gr. Substanz gaben 0,2205 gr. = 50,69% Ag.
b) 0,6755 » » » 0,3405 » = 50,41 » »

Die Theorie verlangt 50,94% Ag.

Diese Resultate gestatten, auch dieses Product für Traubenzucker zu erklären [2]). Die Prüfung auf Galactose, Mannose und Pentaglucosen gab negative Resultate.

7. Glucose aus Lupinensamen-Schalen-Cellulose. Das Rohproduct verwandelte sich im Laufe einer Woche in eine Krystallmasse, welche nur wenig Mutterlauge einschloss. Die Krystalle wurden zwischen Fliesspapier abgepresst und

[1]) Da man nach den Beobachtungen E. Fischer's bei Bestimmung des Schmelzpunkts der Osazone die richtigsten Resultate erhält, wenn man rasch erhitzt, so verfuhren wir in folgender Weise: Das zur Aufnahme des Capillarröhrchens bestimmte Schwefelsäurebad wurde zunächst auf 175—180° erhitzt. Dann wurde das Röhrchen mit der Substanz eingesenkt. Sodann liessen wir die Temperatur rasch bis zum Schmelzpunkt des Osazons steigen.

[2]) Dass nicht Gulose vorlag, konnte aus der Krystallisationsfähigkeit des Rohproducts geschlossen werden.

dann zweimal aus Weingeist umkrystallisirt. Da wir aus einem w. u. mitzutheilenden Grunde vermutheten, dass in diesem Falle dem Traubenzucker eine Pentaglucose beigemengt sei, so wurden die Krystalle fractionsweise aufgesammelt und dann im Polarisationsapparat getrennt untersucht. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

Fraction I. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,8910 gr. Substanz (wasserfrei) enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei 17° C. 28,6° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +52,3°$.

Fraction II. Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,996 gr. Substanz (wasserfrei) enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 30,2° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +52,4°$.

Fraction III. Eine wässrige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,8510 gr. Substanz (wasserfrei) enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 25,6° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +52,0°$.

Alle drei Fractionen zeigten also ein Drehungsvermögen, welches demjenigen des reinen Traubenzuckers sehr nahe liegt.

Gegen Hefe verhielt sich der Zucker wie Traubenzucker. Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferte er Zuckersäure. Das Silbersalz der Letzteren lieferte bei der Analyse folgende Resultate:

a) 0,2080 gr. Substanz gaben 0,1052 gr. = 50,58 % Ag.
b) 0,5930 » » » 0,3000 » = 50,60 » »

Die Theorie verlangt 50,94 % Ag.

Diese Resultate beweisen, dass das vorliegende Product Traubenzucker war. Die Prüfung auf Galactose, Mannose und Pentaglucosen gab negative Resultate (vgl. jedoch auch das im Abschnitt C Mitgetheilte).

8. Glucose aus Kaffeebohnen-Cellulose. Das Rohproduct blieb sehr lange syrupförmig; erst in einer 12 Monate lang aufbewahrten Probe begannen Krystalle sich abzuscheiden; doch blieb der grösste Theil der Probe syrupös. Um eine Reinigung zu erzielen, wurde das Rohproduct in kochendem Weingeist aufgenommen und die vom Ungelösten abfiltrirte

Lösung wieder eingedunstet. Auch das so erhaltene Product blieb aber Monate lang syrupös. Der Grund für dieses Verhalten liegt darin, dass in diesem Product eine sehr beträchtliche Quantität von Mannose enthalten war. Neben derselben fand sich Traubenzucker vor.

Das Vorhandensein von Mannose wird durch folgende Versuchsergebnisse bewiesen: Eine Lösung des Syrups in wenig Wasser gab Niederschläge mit Bleiessig und mit essigsaurem Phenylhydrazin. Die durch letzteres Reagens in der Kälte hervorgebrachte krystallinische Fällung wurde auf ein Filter gebracht, mit Wasser, Weingeist und Aether gewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst und sodann aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt. Das so gewonnene Product erschien unter dem Mikroskop in kleinen Tafeln, stimmte im Aussehen mit einem aus Steinnüssen dargestellten Präparat des Phenylhydrazons der Mannose überein und besass den gleichen Schmelzpunkt, wie Letzteres; bei ziemlich langsamem Erhitzen trat das Schmelzen bei 185—186° ein, bei raschem Erhitzen erst bei ungefähr 200° (entsprechend der Angabe E. Fischer's). Eine nach den Angaben E. Fischer's[1]) bereitete Lösung der Krystalle erwies sich im Polarisationsapparat als schwach linksdrehend. Zur Darstellung des Oxims wurde die wässrige Lösung des Rohproducts mit salzsaurem Hydroxylamin und etwas Natriumcarbonat vermischt; nach 1—2tägigem Stehen schieden sich Krystalle aus, welche, nachdem sie einmal umkrystallisirt worden waren, bei 180° schmolzen; nach E. Fischer und J. Hirschberger schmilzt das Oxim der Mannose bei 184°; doch variirt der Schmelzpunkt etwas, je nachdem man rascher oder weniger rasch erhitzt[2]).

Aus diesen Beobachtungen lässt sich mit Sicherheit schliessen, dass der Glucose-Syrup Mannose einschloss. Dass es d-Mannose war, wird dadurch bewiesen, dass die Lösung des Hydrazons in Salzsäure linksdrehend war[3]).

---

[1]) Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 23, S. 384.

[2]) Ebendaselbst, Bd. 22, S. 1155.

[3]) Nach E. Fischer, Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 23, S. 384.

Um auf das Vorhandensein von Traubenzucker zu prüfen, wurde ein Theil des Rohproducts durch Salpetersäure oxydirt und der dabei erhaltene Syrup in bekannter Weise auf saures zuckersaures Kalium verarbeitet. Wir erhielten dieses Salz, aber in viel geringerer Quantität, als aus den anderen Glucose-Präparaten. Die Analyse des aus dem Kaliumsalz dargestellten neutralen zuckersauren Silbers gab folgende Resultate:

a) 0,2880 gr. Substanz gaben 0,1465 gr. = 50,87 % Ag.
b) 0,3140 » » » 0,1590 » = 50,64 » »

Die Theorie verlangt 50,94 % Ag.

Da auch die Gulose Zuckersäure liefert, so mussten wir, um das Vorhandensein von Traubenzucker behaupten zu können, noch nachweisen, dass die Glucose, aus welcher Zuckersäure entstanden war, ein im Schmelzpunkt mit dem Glucosazon übereinstimmendes Resultat lieferte[1]). Zu diesem Zweck vermischten wir eine wässrige Lösung des Rohproducts in der Kälte mit überschüssigem essigsaurem Phenylhydrazin, filtrirten das in reichlicher Menge ausgeschiedene Phenylhydrazon der Mannose nach Verlauf mehrerer Stunden[2]) ab und erhitzten das Filtrat eine halbe Stunde lang im Wasserbade. In reichlicher Menge schied sich ein krystallinisches Osazon ab, welches in der auf S. 420 beschriebenen Weise behandelt und sodann aus 80procentigem Weingeist umkrystallisirt wurde. Dasselbe schmolz bei 202—203° und kann demnach für Glucosazon erklärt werden.

Der aus Kaffeebohnen-Cellulose erhaltene Glucose-Syrup schloss demnach Mannose und Traubenzucker ein. Es war nun von Interesse, diesen Syrup im Polarisationsapparat zu untersuchen. Es zeigte sich, dass eine wässrige Lösung desselben, welche in 100 cbcm. 13,5 gr. Trockensubstanz ent-

---

[1]) Das Osazon der Gulose hat nach E. Fischer einen weit niedrigeren Schmelzpunkt.

[2]) Wir liessen die mit essigsaurem Phenylhydrazin vermischte Flüssigkeit so lange stehen, bis eine Zunahme der aus dem Phenylhydrazon der Mannose bestehenden Ausscheidung nicht mehr wahrgenommen werden konnte.

hielt[1]), im 200 mm.-Rohr 21,4° S.-V. nach rechts drehte; daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +27,4°$. Nach diesem Resultat kann das Rohproduct ein Gemenge von ungefähr 60 % Mannose und 40 % Traubenzucker gewesen sein, vorausgesetzt, dass nur diese beiden Zuckerarten sich vorfanden (die Prüfung des Syrups auf Galactose und auf Pentaglucosen gab negative Resultate).

Da wir die Kaffee-Cellulose, aus welcher der für diese Versuche benutzte Glucose-Syrup dargestellt worden war, nicht mit F. Schulze'schem Reagens behandelt hatten, so erschien es angezeigt, noch ein mit diesem Reagens behandeltes Kaffeecellulose-Präparat in gleicher Weise zu verarbeiten, um festzustellen, ob der bei der Hydrolyse in Mannose übergehende Bestandtheil der Zellwandungen durch das genannte Reagens zerstört wurde oder nicht. Das bezügliche, aus einer andern Kaffeebohnen-Sorte dargestellte Präparat, welches vor der Behandlung mit dem F. Schulze'schen Reagens 4—5 Stunden lang mit verdünnter Salzsäure gekocht worden war, lieferte bei der Hydrolyse gleichfalls einen an Mannose sehr reichen Syrup; Proben desselben gaben sowohl mit Bleiessig wie mit essigsaurem Phenylhydrazin sehr starke Fällungen. Auch in diesem Falle lag d-Mannose vor; denn das Hydrazin war in salzsaurer Lösung linksdrehend. Dass neben der Mannose Traubenzucker sich vorfand, ist daraus zu schliessen, dass aus dem bei Oxydation des Rohproducts durch Salpetersäure erhaltenen Syrup saures zuckersaures Kalium, freilich nur in sehr geringer Quantität, dargestellt werden konnte. Während aber in diesen Punkten das zweite Glucose-Präparat mit dem ersten übereinstimmte, zeigte sich eine Differenz im optischen Verhalten. Das zweite Präparat war nämlich nur

[1]) Zur Ermittelung des Trockensubstanzgehalts wurde eine abgemessene Menge der Lösung in einem Platinschälchen eingedunstet und der Rückstand auf heissem Sand im Vacuum bis zur Constanz des Gewichts ausgetrocknet. Die beim Verbrennen des Rückstands hinterbleibende geringe Aschenmenge wurde vom Gewicht abgezogen, der Rest als Zucker angesehen. Da die letztere Annahme vermuthlich nicht absolut richtig ist, so kann die oben für $[\alpha]_D$ angegebene Zahl nur als eine approximative betrachtet werden.

sehr schwach rechtsdrehend; eine wässrige Lösung desselben, welche in 100 cbcm. 6,8 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr nur 0,5° S.-V. nach rechts; daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 1,5°$ [1]). Demnach muss hier wohl neben Mannose und Traubenzucker noch eine linksdrehende Glucose vorhanden gewesen sein; es ist demnach anzunehmen, dass die beiden, aus verschiedenem Material dargestellten Kaffeecellulose-Präparate nicht genau die gleiche Zusammensetzung gehabt haben.

9. Glucose aus Cocoskuchen-Cellulose. Wir haben drei Cellulose-Präparate, welche aus Cocoskuchen verschiedener Herkunft dargestellt worden waren, auf Glucose verarbeitet. Von den dabei erhaltenen drei Glucose-Präparaten erwiesen sich zwei als sehr reich an Mannose; sie gaben starke Fällungen mit Bleiessig und mit essigsaurem Phenylhydrazin (in der Kälte); das Hydrazon zeigte das gleiche Verhalten wie die aus Steinnüssen und aus Kaffeebohnen dargestellten Präparate der gleichen Verbindung. Das dritte Glucose-Präparat dagegen gab mit essigsaurem Phenylhydrazin nur eine sehr schwache Fällung und schloss also nur wenig Mannose ein. Neben letzterer Zuckerart war Traubenzucker vorhanden. Denn das Rohproduct lieferte bei der Oxydation durch Salpetersäure Zuckersäure, deren Silbersalz bei der Analyse folgende Resultate gab:

a) 0,2500 gr. Substanz gaben 0,1270 gr. = 50,80 % Ag.
b) 0,2302 » » » 0,1155 » = 50,70 » »

Die Theorie verlangt 50,94 % Ag.

Als ferner aus einer wässrigen Lösung des Rohproducts die Mannose durch essigsaures Phenylhydrazin möglichst vollständig ausgefällt und das Filtrat sodann im Wasserbade erhitzt wurde, schied sich ein Osazon aus, welches nach dem Umkrystallisiren aus 80 procentigem Weingeist bei 202—203°

---

[1]) Diese Zahl kann ebenso wie die bei dem anderen Glucose-Präparat erhaltene nur als eine approximative angesehen werden; denn der Zuckergehalt der untersuchten Lösung entsprach vielleicht nicht genau dem Trockensubstanzgehalt.

schmolz und demnach für Glucosazon erklärt werden konnte[1]).

Da die aus den verschiedenen Präparaten von Cocoskuchen-Cellulose erhaltenen Glucose-Syrupe ungleiche Quantitäten von Mannose einschlossen, so ergibt sich die Schlussfolgerung, dass diese Cellulose in ihrer Zusammensetzung variirt.

10. Glucose aus Sesamkuchen-Cellulose. Dieses Glucose-Präparat enthielt ebenso, wie die beiden Vorigen, Mannose und Traubenzucker. Die Mannose wurde durch Darstellung des Phenylhydrazons, sowie durch die Fällung mit Bleiessig identificirt. Dass Traubenzucker vorhanden war, geht aus folgenden Versuchsergebnissen hervor: Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferte der Glucose-Syrup Zuckersäure, deren Silbersalz bei der Analyse folgende Resultate gab:

a) 0,2920 gr. Substanz gaben 0,1480 gr. = 50,70 % Ag.
b) 0,3322 » » » 0,1692 » = 50,93 » »

während die Theorie 50,94 % Ag verlangt. Ferner schied sich aus dem Filtrat vom Phenylhydrazon der Mannose beim Erwärmen ein Osazon aus, welches nach dem Umkrystallisiren aus 80procentigem Alkohol bei 202—203° schmolz und demnach für Glucosazon erklärt werden konnte.

Der Mannose-Gehalt dieses Glucose-Präparats war, nach der Stärke der durch essigsaures Phenylhydrazin in der Kälte hervorgebrachten Fällung zu urtheilen, nicht sehr bedeutend; in Uebereinstimmung damit steht es, dass dieses Präparat schon nach einigen Wochen zu krystallisiren begann.

Wie aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen zu ersehen ist, haben wir für zehn Cellulosen verschiedener Herkunft den Beweis beigebracht, dass dieselben bei der Hydrolyse Traubenzucker liefern. Dazu kommt als elfte noch die

[1]) Dieses Osazon wurde genau ebenso behandelt, wie auf S. 420 angegeben worden ist. Auch die Schmelzpunkts-Bestimmung geschah in der w. o. beschriebenen Weise.

Baumwoll-Cellulose, für welche das Gleiche schon durch Flechsig (loc. cit.) nachgewiesen worden ist.

Es ist bemerkenswerth, dass alle bis jetzt in dieser Hinsicht untersuchten Cellulose-Präparate Traubenzucker lieferten. Dieser Befund entspricht der bisher schon verbreiteten, aber nur auf ein Versuchsresultat sich stützenden Annahme, dass die Cellulose ein Anhydrid des Traubenzuckers ist[1]).

Aus drei Cellulosen erhielten wir aber neben Traubenzucker auch Mannose. Daraus ist zu schliessen, dass auch eine Modification der Cellulose existirt, welche ein Anhydrid der Mannose ist. Was wir über die Natur dieses Körpers noch zu ermitteln vermochten, ist im folgenden Abschnitt mitgetheilt.

In keinem der bei Hydrolyse der Cellulosen erhaltenen Glucose-Präparate liess sich Galactose nachweisen. Dieses Versuchsresultat kann zugleich als ein Beweis dafür betrachtet werden, dass aus unseren Cellulose-Präparaten durch das Kochen mit einer verdünnten Mineralsäure die Hemicellulosen, wenn nicht ganz vollständig, so doch bis auf einen nicht in Betracht kommenden Rest, entfernt worden waren. Denn von den zur Verwendung gekommenen pflanzlichen Objecten enthalten sechs, nämlich Lupinen- und Erbsensamen, Schalen der Lupinensamen, Rothkleepflanzen, Kaffeebohnen und Cocoskuchen, Hemicellulosen, welche bei der Hydrolyse Galactose liefern. Wären die Letzteren durch die verdünnten Mineralsäuren nicht gelöst worden, so hätten die bei Hydrolyse der rückständigen Cellulosen erhaltenen Glucose-Präparate nachweisbare Galactosemengen einschliessen müssen.

B. Ueber die Mannoso-Cellulose.

Mit den Namen «Mannoso-Cellulose» bezeichne ich die in den Kaffeebohnen, sowie in den Cocos- und Sesamkuchen enthaltene celluloseähnliche Substanz, welche bei der Hydrolyse

---

[1]) Und zwar ein polymeres Anhydrid; denn es ist anzunehmen, dass die Formel der Cellulose = $(C^6H^{10}O^5)^x$ ist.

Mannose liefert. Dass dieselbe nicht nur dem F. Schulzeschen Reagens, sondern auch heissen verdünnten Mineralsäuren widersteht, geht aus den im vorigen Abschnitt von mir gemachten Mittheilungen hervor; sie muss demnach wohl für verschieden von dem durch heisse verdünnte Mineralsäuren leicht in Lösung zu bringenden Anhydrid der Mannose erklärt werden, welches sich in den Steinnüssen, sowie in einer Anzahl anderer Pflanzensamen vorfindet und von mir zu den Hemicellulosen gerechnet wird[1]).

Dass diese Substanz in Bezug auf die Widerstandsfähigkeit gegen verdünnte Schwefelsäure der gewöhnlichen Cellulose (Dextroso-Cellulose) nur wenig nachsteht, ergibt sich aus einigen Versuchen, welche mit einem der beiden aus Kaffeebohnen dargestellten Cellulose-Präparate angestellt wurden. Von demselben wurden bei 1stündigem Kochen mit $1^1/_4$procentiger Schwefelsäure 2,96 $^0/_0$, bei 1stündigem Kochen mit 5procentiger Schwefelsäure 8,39 $^0/_0$ gelöst. Von einer sehr sorgfältig gereinigten Cellulose aus Tannenholz gingen bei 1stündigem Kochen mit $1^1/_4$procentiger Schwefelsäure 1,56 $^0/_0$, bei 1stündigem Kochen mit 5procentiger Schwefelsäure 4,55 $^0/_0$ in Lösung. Andere Cellulose-Präparate (dargestellt aus Rothkleepflanzen, Weizenkleie und Lupinenschalen) verloren bei 1stündigem Kochen mit $1^1/_4$procentiger Schwefelsäure 0,90—2,76 $^0/_0$ an Gewicht. Die Kaffeebohnen-Cellulose wurde demnach durch die verdünnte Schwefelsäure zwar etwas stärker angegriffen, als die Cellulosen anderer Herkunft; doch kann der Unterschied nicht für erheblich erklärt werden.

Dass die Mannoso-Cellulose auch in den übrigen Eigenschaften mit der gewöhnlichen Cellulose übereinstimmt, darf wohl aus dem Verhalten der bezüglichen Cellulose-Präparate geschlossen werden. Dieselben wurden durch Jod und Schwefelsäure, sowie durch Chlorzinkjod intensiv blau gefärbt und waren löslich in Kupferoxyd-Ammoniak, sowie in einem Gemisch von concentrirter Salzsäure und Chlorzinklösung.

---

[1]) So dass also die Existenz mehrerer Anhydride der Mannose (von ungleicher Widerstandsfähigkeit gegen Säuren) in den Zellmembranen anzunehmen ist.

Bei der Elementaranalyse eines lufttrocknen Kaffee-cellulose-Präparats wurden folgende Resultate erhalten[1]):

1. 0,2502 gr. Substanz (nach Abzug der geringen Aschenmenge in Rechnung gestellt) gaben 0,3892 gr. CO^2 und 0,1448 gr. H^2O.
2. 0,2134 gr. Substanz (exclus. Asche) gaben 0,3332 gr. CO^2 und 0,1296 gr. H^2O.
3. 3,4710 gr. Substanz verloren beim Trocknen bei 105° 0,1738 gr. = 5,07 % an Gewicht, bei 110° 0,2014 gr. = 5,83 %.

Aus diesen Daten berechnet sich für die bei 105° getrocknete Substanz der folgende C- und H-Gehalt:

		1.	2.	Mittel:
C	=	44,69 %	44,85 %	44,77 %.
H	=	6,18 »	6.51 »	6,35 »
O	=	—	—	—

Für die bei 110° getrocknete Substanz berechnen sich folgende Zahlen:

		1.	2.	Mittel:
C	=	45,04 %	45,21 %	45,13 %.
H	=	6,13 »	6,47 »	6,30 »
O	=	—	—	—

Die Formel $C^6H^{10}O^5$, welche man der Cellulose gewöhnlich beilegt, verlangt 44,44 % C, 6,17 % H und 49,39 % O. Aus der Zusammenstellung, welche sich in Gmelin's Handbuch der Chemie, Bd. 7, S. 578—581 findet, ist aber zu ersehen, dass die bei Analyse vieler Cellulose-Präparate erhaltenen Resultate von den durch vorstehende Formel geforderten Werthen beträchtlich abweichen — z. Th. weit mehr, als die für die Kaffee-Cellulose von uns gefundenen Zahlen.

Der Stickstoffgehalt des analysirten Kaffee-Cellulose-Präparats betrug nur 0,06 %.

C. Darstellung von Holzgummi (Xylan) aus Cellulose-Präparaten.

Ausser Anhydriden des Traubenzuckers und der Mannose enthielten die von uns dargestellten Cellulose-Präparate auch eine Substanz, welche sich in Xylose überführen liess. Zur Auffindung derselben führte eine Beobachtung, welche zuerst

[1]) Die Analyse wurde von E. Winterstein ausgeführt.

an der aus den Schalen der Lupinensamen dargestellten Cellulose gemacht wurde. Als diese Cellulose — ein Präparat von rein weisser Farbe, welches sich in Kupferoxydammoniak bis auf einen äusserst geringen Rest auflöste und demnach nur höchst geringe Mengen von Unreinigkeiten einzuschliessen schien — mit Phloroglucin und verdünnter Salzsäure einige Minuten lang gekocht wurde, färbte sie sich intensiv violettroth, während die Flüssigkeit nur vorübergehend eine schwach rothe Färbung annahm (später wurde sie gelb). Die Färbung, welche die Cellulose bei dieser Behandlung annahm, trat am reinsten hervor, als wir nach dem Erhitzen mit den genannten Reagentien die gefärbte Masse abfiltrirten und mit Wasser auswuschen. Brachte man sie sodann in eine ca. 50procentige Chlorallösung, so nahm auch Letztere eine stark violettrothe Färbung an[1]).

Ein aus den Schalen der Erbsensamen dargestelltes Cellulose-Präparat zeigte diese Reaction in der gleichen Stärke. Baumwolle- und Tannenholz-Cellulose färbten sich dagegen bei gleicher Behandlung nur so schwach röthlich, dass ihre Färbung erst nach dem Abfiltriren und Auswaschen mit Wasser deutlich wahrgenommen werden konnte. Andere Cellulose-Präparate, z. B. diejenigen, welche aus Roggenstroh und aus Rothkleepflanzen dargestellt worden waren, färbten sich zwar etwas stärker, aber doch lange nicht so intensiv, wie die zuerst genannten Cellulosen.

Da die beschriebene Reaction Verwandtschaft mit derjenigen besitzt, welche die Pentaglucosen mit Phloroglucin und Salzsäure geben[2]), so schien es angezeigt, zu untersuchen, wie viel Furfurol jene Cellulose-Präparate lieferten. Ein nach dem Verfahren von Stone und Tollens[3])

---

[1]) Zu letzterem Versuch veranlassten uns Beobachtungen, welche von E. Schär (Archiv der Pharmacie, Bd. 228, S. 257) über die Einwirkung des Chloralhydrats auf Zellsubstanz gemacht worden sind.

[2]) Hervorzuheben ist, dass diese Reaction nicht mit derjenigen zusammenfällt, welche das Lignin gibt. Denn die Cellulose-Präparate wurden durch Phloroglucin und Salzsäure in der Kälte gar nicht gefärbt.

[3]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 249, S. 230.

ausgeführter Versuch zeigte, dass in der That aus der Lupinenschalen-Cellulose eine nicht unbeträchtliche Furfurolmenge erhalten werden konnte. Später hat Herr E. Winterstein auf meine Veranlassung nach dem verbesserten Verfahren von de Chalmot und Tollens[1]) Bestimmungen ausgeführt, welche folgende Resultate[2]) lieferten:

a) 2,00 gr. Lupinenschalen-Cellulose gaben 0,2160 gr. Hydrazon = 0,1366 gr. oder 6,83 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,2070 gr. Hydrazon = 0,1335 gr. oder 6,67 % Furfurol.

Bestimmungen, welche nach der gleichen Methode mit einigen anderen Cellulose-Präparaten ausgeführt wurden, gaben folgende Resultate:

Cellulose aus den Samenschalen der Erbse.

a) 2,00 gr. Substanz gaben 0,2564 gr. Hydrazon = 0,1575 gr. oder 7,87 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,2500 gr. Hydrazon = 0,1542 gr. oder 7,71 % Furfurol.

Cellulose aus Roggenstroh.

a) 2,50 gr. Substanz gaben 0,1270 gr. Hydrazon = 0,0869 gr. oder 3,47 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,1196 gr. Hydrazon = 0,0907 gr. oder 3,63 % Furfurol.

Cellulose aus Rothkleepflanzen.

a) 2,00 gr. Substanz gaben 0,0990 gr. Hydrazon = 0,0763 gr. oder 3,81 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,1020 gr. Hydrazon = 0,0778 gr. oder 3,85 % Furfurol.

Cellulose aus Tannenholz.

a) 2,00 gr. Substanz gaben 0,0326 gr. Hydrazon = 0,0420 gr. oder 2,10 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,0396 gr. Hydrazon = 0,0396 gr. oder 2,28 % Furfurol.

---

[1]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 1694.

[2]) Man erhält die Furfurol-Mengen, indem man die Hydrazon-Quantitäten mit 0,516 multiplicirt und 0,0252 addirt.

Im Folgenden sind die im Mittel erhaltenen Furfurol-Mengen und die denselben entsprechenden Pentaglucose-Quantitäten[1]) zusammengestellt:

	Furfurol:	Pentaglucose:
Cellulose aus den Samenschalen der Lupine	6,75 %	13,0 %
» » » » » Erbse .	7,79 »	15,0 »
» » Roggenstroh	3,55 »	6,3 »
» » Rothkleepflanzen	3,83 »	6,8 »
» » Tannenholz	2,17 »	3,6 »

Die Zahlen der vorstehenden Tabelle zeigen, dass die Cellulose-Präparate um so mehr Furfurol lieferten, je stärker sie sich beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure färbten.

Da die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse die Vermuthung nahe legten, dass die Färbung der Cellulosen beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure einem Gehalt an Holzgummi oder einer demselben verwandten Substanz zuzuschreiben sei, so liessen wir die Lupinenschalen-Cellulose einige Tage lang unter häufigem Umschütteln mit kalter 5procentiger Natronlauge in Berührung, beseitigten dann das Ungelöste durch Filtration und versetzten das Filtrat mit Salzsäure und Weingeist. Es entstand eine Fällung, welche nach dem Abfiltriren, Waschen mit Weingeist und Trocknen über Schwefelsäure eine weisse, zerreibliche Masse bildete. Als eine Probe derselben mit Phloroglucin und Salzsäure erhitzt wurde, entstand eine kirschrothe Flüssigkeit.

Ein quantitativ durchgeführter Versuch zeigte, dass die Lupinenschalen-Cellulose bei 2tägiger Behandlung mit 5procentiger Natronlauge 10,5 % an Gewicht verlor. Der Rückstand färbte sich beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure zwar viel schwächer, als die ursprüngliche Substanz, gab indessen doch noch sehr deutliche Reaction. Bei nochmaliger Behandlung mit 5procentiger Natronlauge gab derselbe aber wieder Substanz an Letztere ab, ebenso bei einer dritten und vierten Wiederholung dieser Operation; doch wurden die in Lösung gehenden Substanzmengen immer ge-

[1]) In Betreff der Berechnung vgl. Ber. d. D. Chem. Gesellschaft Bd. 24, S. 3582.

ringer. Der nach wiederholter Einwirkung der Natronlauge übrig gebliebene Rückstand färbte sich beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure nur noch sehr schwach. Daraus ist zu schliessen, dass der jene Reaction verursachende Bestandtheil der Cellulose-Präparate durch kalte 5procentige Natronlauge extrahirt werden konnte; doch ging offenbar die Auflösung desselben nur sehr langsam von Statten[1]).

Um den Beweis dafür zu liefern, dass die aus der alkalischen Lösung durch Salzsäure und Weingeist gefällte Substanz wirklich Holzgummi (Xylan) einschloss, musste gezeigt werden, dass dieselbe bei der Hydrolyse Xylose liefert. Um ein für die bezüglichen Versuche genügendes Quantum jener Substanz zu erhalten, mussten wir eine relativ grosse Menge Lupinenschalen-Cellulose in Arbeit nehmen. Herr E. Winterstein unterzog sich der grossen Mühe, ein Quantum von ca. 500 gr. solcher Cellulose nach dem früher beschriebenen Verfahren (Behandlung des fein zerriebenen und mittelst Aethers entfetteten Rohmaterials mit 0,5procentiger kalter Kalilauge, Auskochen mit verdünnter Salzsäure, Behandlung mit F. Schulze'schem Reagens u. s. w.) darzustellen. Diese Cellulose wurde sodann mit 5procentiger kalter Natronlauge ungefähr eine Woche lang in Berührung gelassen, der filtrirte Extract mit Salzsäure und Weingeist versetzt, die dabei niederfallende Substanz abfiltrirt, mit Weingeist gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Dann kochten wir dieselbe 4—5 Stunden lang mit $2^1/_2$procentiger Schwefelsäure, dunsteten die mittelst Baryts entsäuerte Flüssigkeit hierauf im Wasserbade bei gelinder Wärme zum Syrup ein und extrahirten Letzteren mit kochendem Weingeist. Beim

[1]) Nach 3maliger (je 2tägiger) Behandlung mit kalter 5procentiger Natronlauge lieferte die Lupinenschalen-Cellulose noch 3,28 % Furfurol = 6,6 % Pentaglucose. Da nun diese Cellulose schon bei der ersten Extraction 10,5 % an Gewicht verloren hatte, so ergibt sich die Schlussfolgerung, dass dieselbe an die Natronlauge nicht bloss den in Xylose überführbaren Bestandtheil abgab. In Uebereinstimmung damit stehen andere von uns gemachte Beobachtungen, sowie auch die Ergebnisse der Arbeiten W. Hoffmeister's (vgl. Landw. Versuchsstationen, Bd. 39, Heft 6)

Verdunsten über Schwefelsäure lieferte die weingeistige Lösung bald Krystalle. Dieselben wurden zur Entfernung der Mutterlauge auf eine Thonplatte gebracht und sodann aus Weingeist umkrystallisirt. So erhielten wir einen in kleinen glänzenden Prismen krystallisirenden Zucker, welcher die Eigenschaften der Xylose besass. Derselbe schmolz bei 145°; beim Erhitzen mit dem Phloroglucin-Salzsäure-Reagens lieferte er eine kirschrothe Flüssigkeit. Die Untersuchung im Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 2,1216 gr. Substanz (wasserfrei) enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur 11,6° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +18,9°$. Nach Wheeler und Tollens[1]) ist für reine Xylose $[\alpha]_D = +18$ bis $+19°$.

Diese Versuchsergebnisse beweisen, dass Xylose vorlag. Demnach muss aber die aus der alkalischen Lösung durch Salzsäure und Weingeist gefällte Substanz, welche beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure diesen Zucker lieferte, für Holzgummi (Xylan) erklärt werden.

Es ist bemerkenswerth, dass diese Substanz durch kochende 2½procentige Schwefelsäure rasch gelöst wurde, während der Zellwandbestandtheil, aus welchem sie sich bei Einwirkung kalter 5procentiger Natronlauge bildete, nicht nur heissen verdünnten Mineralsäuren, sondern auch dem F. Schulze'schen Reagens[2]) Widerstand leistete. Dies veranlasste uns, zu untersuchen, wie sich der in Holzgummi überführbare Bestandtheil des Buchenholzes in dieser Hinsicht verhält. Die von E. Winterstein ausgeführten Versuche, über welche an anderer Stelle ausführlicher berichtet werden soll, zeigten, dass bei 3stündigem Kochen von zerkleinertem Buchenholz mit 1¼procentiger Schwefelsäure nur ein geringer Theil jenes Bestandtheils in Lösung geht und dass auch der Rückstand, welcher bei 14tägiger Be-

---

[1]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 22, S. 1046.

[2]) Es sei hier erwähnt, dass die Lupinenschalen-Cellulose nach nochmaliger 14tägiger Behandlung mit Schulze'schem Reagens noch fast eben so viel Furfurol lieferte, als vorher.

handlung des genannten Materials mit F. Schulze'schem Reagens und darauf folgender Extraction mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit übrig bleibt, noch eine nicht unbeträchtliche Quantität von Holzgummi liefert.

Die pflanzlichen Zellwandungen schliessen also verschiedene Modificationen eines in Xylose überführbaren Kohlenhydrats (eines Xylans) ein. Während z. B. in den Zellwandungen der Weizen- und Roggenkleie ein Xylan sich vorfindet, welches durch heisse verdünnte Mineralsäuren leicht in Lösung gebracht werden kann, enthalten manche Zellwandungen Modificationen des Xylans, welche heissen verdünnten Mineralsäuren oder auch dem F. Schulze'schen Reagens widerstehen. Bei Einwirkung kalter 5procentiger Natronlauge gehen Letztere in Lösung, werden dabei aber in eine Modification verwandelt, welche durch Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren leicht in Xylose übergeführt werden kann.

Dass im Holz das Holzgummi nicht in derjenigen Form sich vorfindet, in welcher man es bei der Darstellung nach Thomsen's Vorschrift erhält, ist übrigens früher schon von G. Lange[1]) hervorgehoben worden.

Das Vorhandensein einer in Xylose überführbaren Substanz in den mit F. Schulze'schem Reagens behandelten Cellulose-Präparaten lässt sich, wie aus unseren Beobachtungen geschlossen werden darf, an der oben beschriebenen Färbung erkennen, welche die Cellulose beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure gibt. Die Art und Weise, in welcher diese Färbung auftritt, lässt erkennen, dass sie durch einen gegen verdünnte Mineralsäuren sehr widerstandsfähigen Körper verursacht wird. Denn die Färbung haftet der ungelösten Substanz an, während die Lösung nur eine schwach rothe, später in Gelb übergehende Farbe annimmt.

Rücklick auf die Resultate.

Die in unseren beiden Abhandlungen mitgetheilten Versuchsergebnisse liefern den Beweis dafür, dass die Zellwandungen der von uns untersuchten pflanzlichen Objecte

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 17.

eine complicirte Zusammensetzung besitzen. Neben Zellwandbestandtheilen, welche durch Erhitzen mit stark verdünnten Mineralsäuren leicht in Lösung gebracht werden können und dabei Galactose, Mannose, Arabinose und Xylose liefern, finden sich andere vor, welche nur in Glucosen übergeführt werden können, indem man sie durch starke Säure (z. B. Schwefelsäure, welche mit wenig Wasser verdünnt ist) in Lösung bringt und diese Lösung nach genügendem Wasserzusatz einige Stunden lang kocht. Die ersteren Stoffe bezeichne ich als Hemicellulosen[1]), die letzteren als Cellulosen. Eine in Traubenzucker überführbare Cellulose (Dextroso-Cellulose) scheint in den Zellwandungen allgemein verbreitet zu sein; denn alle von uns untersuchten Cellulose-Präparate lieferten bei der Hydrolyse Traubenzucker. Neben dieser Zuckerart aber erhielten wir aus den Cellulosen in manchen Fällen Mannose und Xylose.

Es ist wohl statthaft, diese Zellwandbestandtheile als polymere Anhydride von Glucosen anzusehen. Zur Charakterisirung derselben empfahl es sich selbsverständlich in erster Linie, festzustellen, welche Glucosen aus ihnen entstehen. Im Uebrigen bietet ihre chemische Untersuchung eigenartige Schwierigkeiten dar. Denn erstens ist es fraglich, ob die zur Trennung der Zellwandbestandtheile angewendeten Verfahren in irgend einem Falle einheitliche Producte liefern; zweitens aber muss es als zweifellos bezeichnet werden, dass bei Einwirkung der dabei zur Verwendung kommenden Reagentien die Zellwandbestandtheile schon gewisse Veränderungen erleiden. Extrahirt man z. B. die Hemicellulosen durch Erhitzen mit verdünnten Alkalien, so werden sie in lösliche Modificationen verwandelt, welche meist wohl den Charakter schwacher Säuren besitzen. Auch die Cellulosen erleiden ohne Zweifel gewisse Aenderungen in den Eigenschaften, wenn man sie behufs der Reindarstellung mit Schulze'schem Reagens oder ähnlichen Mitteln behandelt[2]).

---

[1]) Vgl. auch Anmerkung 1 auf S. 406.
[2]) Vgl. die Anmerkung 3 auf S. 407.

Es ist also schwierig, durch makrochemische Untersuchungen über die Beschaffenheit der Zellwandbestandtheile in jeder Richtung Aufschluss zu gewinnen.

Bei dieser Sachlage ist auch die Frage, ob die oben genannten Bestandtheile (die Anhydride der Glucosen) in den Zellwandungen der von uns untersuchten Objecte nur neben einander abgelagert oder ob sie zu Verbindungen vereinigt sind, nicht leicht zu beantworten[1]).

Diese Darlegungen lassen aber erkennen, dass unsere Untersuchungen über die in den Zellwandungen enthaltenen Kohlenhydrate keineswegs als erschöpfende anzusehen sind.

---

[1]) Einige Bemerkungen über diese Frage sind in unserer ersten Abhandlung, S. 268 und 269, gemacht worden; ich möchte aber das dort Gesagte keineswegs als entscheidend und demnach die ganze Frage noch als eine offene bezeichnen.

Ueber die Verwendbarkeit von Farbenreactionen zur Prüfung von Ferrocyankalium-Eiweissniederschlägen.

Von

Hugo Winternitz.

(Der Redaction zugegangen am 18. Februar 1892.)

In meiner Arbeit «Ueber Eiweiss im normalen Harn»[1]) habe ich davon Mittheilung gemacht, in welcher Weise die Biuretreaction[2]) und Millon's Reagens zur Prüfung von Ferrocyankaliumniederschlägen auf Eiweiss herangezogen werden können.

Das Ferrocyankalium stellt ein ausserordentlich empfindliches Eiweissreagens dar (nach Hofmeister[3]) ist Albumin dadurch noch in einer Lösung von 1 : 50000 nachweisbar), ohne dass es als absolut sicher bezeichnet werden darf, da geringe Niederschläge auch bei Abwesenheit von Eiweiss entstehen können, sei es als Zersetzungsproducte des Blutlaugensalzes, sei es als chemische Verbindung desselben mit anderen Körpern.

Unter solchen Umständen kann es nicht selten nothwendig erscheinen, eine durch Ferrocyankalium hervorgerufene Fällung auf ihre Eiweissnatur zu prüfen, um so die Differentialdiagnose sicher zu stellen, und dies ist um so wichtiger, als

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XV.

[2]) In einer mir erst jetzt bekannt gewordenen Arbeit (Zuelzer's Centralbl., Bd. I) hat Malfatti zu gleichem Zwecke — wenn auch in anderer Weise — die Biuretreaction in Anwendung gebracht. Es ist selbstverständlich, dass ihm demnach hierfür die Priorität gebührt.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. 2, S. 288.

die im Uebrigen noch empfindlicheren Eiweissreagentien, wie Gerbsäure, Phosphorwolframsäure, Jodquecksilberjodkalium oder Jodwismuthjodkalium die Anwendung der Farbenreactionen überhaupt nicht zulassen.

Im Nachfolgenden theile ich nun in Kürze mit, inwieweit auch die übrigen Farbenreactionen der Proteinsubstanzen zur Prüfung von Ferrocyankaliumniederschlägen geeignet erscheinen. Die Verwendbarkeit dieser Farbenreactionen hängt im Wesentlichen ab von der Beeinträchtigung, welche die Farbenreaction des Eiweisskörpers durch die bei Einwirkung des Reagens sich bildenden farbigen Zersetzungsproducte des Ferrocyankaliums erfährt.

a) Reaction von Fröhde[1]). Beim Behandeln von Albumin mit molybdänsäurehaltiger Schwefelsäure färbt sich dasselbe schön dunkelblau. Diese an sich recht empfindliche und charakteristische Reaction der Eiweisskörper ist zur Prüfung von Ferrocyankaliumniederschlägen absolut unbrauchbar, weil das Ferrocyankalium den Ausfall der Reaction vollständig beeinträchtigt, wie denn schon Fröhde hervorhebt, dass diese Reaction nur mit reinem Albumin gelingt.

b) Reaction von Adamkiewicz. Ferrocyankalium gibt, wie bekannt, mit Eisessig einen unbedeutenden Niederschlag. Beim Kochen unter Zusatz einiger Tropfen concentrirter Schwefelsäure löst sich derselbe und die Probe nimmt, sofern es sich um eine Eiweiss-Ferrocyankaliumverbindung handelt, die bekannte schön violette Färbung an. Die Reaction ist sehr empfindlich, und es genügt eine minimale Menge des Ferrocyankalium-Eiweissniederschlages für den positiven Ausfall derselben. Der Farbenton hängt von der Menge des Ferrocyankaliumniederschlages ab und es unterscheidet sich die Reaction auch hierin in nichts von der, welche eintritt, wenn man es mit reinen Albuminlösungen zu thun hat. Zu erwähnen wäre noch, dass die Probe, wenn es sich um Ferrocyankaliumeiweissniederschläge handelt, genügend lange gekocht werden muss.

---

[1]) Fröhde, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 145, S. 376.

c) Reaction mit concentrirter Salzsäure (sogenannte Liebermann'sche Reaction). Auch der Ausfall dieser Reaction wird durch die Gegenwart von Ferrocyankalium in keiner Weise beeinträchtigt. Bringt man eine sehr geringe Menge eines Ferrocyankaliumniederschlages, den man durch Fällen von Eiweissharn erhalten hat, mit der Spitze eines Glasstabes in 1 bis 2 cbcm. concentrirter Salzsäure und kocht die Probe, so tritt deutlich violette Färbung auf. Da diese Probe indess selbst bei reinen Albuminlösungen oft nicht in charakteristischer Weise ausfällt und geringe Verunreinigungen den Farbenton wesentlich verändern, so dürfte ihre diagnostische Verwerthung nicht unbedingt zu empfehlen sein.

d) Xanthoproteinreaction. Während Ferrocyankalium mit concentrirter Salpetersäure schon in der Kälte — viel rascher beim Kochen — durch die sich bildenden Oxydationsproducte des Ferrocyankaliums eine grünrothe beziehungsweise dunkelrothe Färbung annimmt, bleibt die Lösung eines Ferrocyankaliumeiweissniederschlages in concentrirter Salpetersäure auch beim Kochen gelb gefärbt. Es kommt hier offenbar die Eiwirkung der Salpetersäure auf das Eiweiss — Xanthoprotein — zu Stande, ehe noch die Oxydationsproducte des Ferrocyankaliums entstehen. Die Reaction selbst ist indess nicht charakteristisch und sie wird hier nur der Vollständigkeit wegen angeführt. Zur diagnostischen Verwerthung eignet sie sich nicht.

e) Reaction von Max Schulze (mit concentrirter Schwefelsäure und einigen Tropfen verdünnter Rohrzuckerlösung). Die Gegenwart von Ferrocyankalium hindert den Ausfall der Reaction nicht. Dieselbe ist aber einerseits wenig empfindlich und ergibt andererseits nur selten ein befriedigendes Resultat, weil die Eiweisskörper — auch die Eiweiss-Ferrocyankaliumniederschläge — mit concentrirter Schwefelsäure allein rothbraune Farbstoffe bilden.

Als die empfindlichste empfiehlt sich nach meinen Erfahrungen die Millon'sche Reaction. Eine geringe Menge

eines Ferrocyankalium-Eiweissniederschlages wird, mit Millon's Reagens gekocht, sofort dunkel braunroth. Da wo die Eiweissmenge überhaupt so gross ist, dass sie mit Ferrocyankalium in Fällung geht, wird man durch die Prüfung mit Millon's Reagens stets die Gegenwart von Eiweiss unzweideutig feststellen können.

In weiterer Folge kommen dann die Biuretreaction, die sog. Liebermann'sche und die Adamkiewicz'sche Reaction in Betracht.

Den im Vorstehenden gemachten Mittheilungen fügt sich passend eine Erwiderung an, zu der ich durch eine von Malfatti veröffentlichte Arbeit[1]): «Zur Frage der physiologischen Albuminurie» veranlasst werde. Derselbe führt in seiner Arbeit aus, dass der von Posner für Serumeiweiss angesehene Körper Mucin sei und knüpft daran in einer Fussnote folgende Bemerkung: «Aus einer in neuester Zeit erschienenen Arbeit (Ztschr. f. phys. Chemie, Bd. XV) von Hugo Winternitz geht hervor, dass sogar dieser Körper im normalen Harn fehlt. Dieses gegen alle bisherigen Erfahrungen sprechende Resultat erklärt sich aber aus der geringen Zahl der Beobachtungen und den unzureichenden Versuchsanordnungen, die in der Arbeit verwendet wurden.»

Herr Malfatti hat zu seinen Versuchen Harne verwendet, welche nach seiner eigenen Angabe «die gewöhnlichen Eiweissreactionen nicht stark, aber deutlich ergeben hatten». Ich habe bei meinen Untersuchungen solche Harne, wie ausdrücklich betont wurde, grundsätzlich ausgeschlossen und nur Harne verwendet, welche keine der üblichen Eiweissreactionen gaben.

Schon daraus geht hervor, dass das den Untersuchungen zu Grunde liegende Material dort und hier ein ganz verschiedenes war, und dieser Umstand allein würde mich der Mühe entheben, auf die Kritik, welche Herr Malfatti an meine Arbeit und ihr Ergebniss geknüpft hat, überhaupt einzugehen. Da mir Herr Malfatti die Sache aber überaus

[1]) Wiener klin. Wochenschrift, No. 24, 1891.

leicht gemacht hat, so will ich mir die Gelegenheit nicht entgehen lassen, diesbezüglich noch Folgendes anzuführen: Der Körper, welchen Herr Malfatti beschreibt, wird durch Säuren und saure Salze gefällt; er ist, wie er des Weiteren ausführt, in Essigsäure und verdünnten Mineralsäuren unlöslich. Der Körper, mit welchem ich mich in letzter Instanz beschäftigt habe, ist in Essigsäure löslich und wird aus dieser Lösung durch Ferrocyankalium gefällt. Es handelt sich also hier um zwei ganz verschiedene Körper. Angenommen aber, es würde sich bei dem von mir untersuchten Körper wirklich um Mucin handeln, welches bei der Behandlung mit verdünnter Essigsäure ganz oder zum Theil in Lösung gegangen ist[1]), so müsste die Ferrocyankaliumfällung dieses Körpers die von mir als verwendbar bezeichneten Farbenreactionen der Proteinsubstanzen geben — und diese gibt sie nicht.

Dass Mucin im Harne überhaupt vorkommt, habe ich nicht nur nicht bestritten, sondern ich habe diesbezüglich sogar auf das Vorkommen eines Körpers im Alkoholniederschlage hingewiesen, der die Adamkiewicz'sche Reaction gibt und von dem ich die Vermuthung aussprach, dass es ein mucinartiger Körper sei[2]). Näher darauf einzugehen hatte ich keine Veranlassung, weil mich nur die Frage beschäftigte, ob der in essigsaurer Lösung durch Ferrocyankalium fällbare, d. i. der von Posner als Serumeiweiss charakterisirte, Körper Eiweiss enthalte oder nicht.

Endlich macht mir Herr Malfatti den Vorwurf, dass die Zahl meiner Versuche unzureichend sei. Er vergisst dabei nur, was ich ermitteln wollte, nämlich ob jeder normale Harn Eiweiss enthalten müsse, wie Senator und Posner behauptet hatten. Gelang es mir festzustellen, dass auch nur einer der untersuchten Harne kein Eiweiss enthielt, so

[1]) Ich mache diese Annahme nur deshalb, weil Mucin von Essigsäure unter Umständen bei Gegenwart von Neutralsalzen gelöst wird. Streng genommen ist indess auch diese Möglichkeit hier kaum in Betracht zu ziehen, weil der Alkoholniederschlag vor dem Extrahiren mit Essigsäure nach dem Vorgang von Posner mit Wasser gewaschen wurde.

[2]) L. c., Seite 201, Zeile 2—9.

genügte das, um zu beweisen, was ich beweisen wollte. Dass ich mich mit dem einmaligen Ergebniss nicht begnügte, brauche ich wohl kaum nochmals zu betonen.

Die Bemerkung, dass meine Versuchsanordnungen mangelhaft sind, hat Herr Malfatti in keiner Weise begründet und ich erachte mich daher einer darauf gerichteten Erwiderung überhoben.

Mit Rücksicht auf die vorgebrachten Thatsachen halte ich demnach nicht nur meine Angaben aufrecht, sondern ich weise auch Herrn Malfatti's Kritik als unbegründet mit aller Entschiedenheit zurück.

Phys.-chem. Institut zu Strassburg, Februar 1892.

Ueber die quantitative Bestimmung geringer Mengen von Kalk.

Von

Dr. Martin Krüger.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 20. Februar 1892.)

Die im Folgenden beschriebene Methode der quantitativen Bestimmung von Kalk ist nicht neu; die angeführten Versuche sollen nur zeigen, dass die bekannte Hempel'sche Methode[1]), den Kalk durch Titration der an ihn gebundenen Oxalsäure mittels Permanganatlösungen zu bestimmen, auch bei geringen Mengen von Kalk gute und brauchbare Resultate liefert. Meistens handelt es sich um die Bestimmung so grosser Mengen von Kalk, für welche die Brauchbarkeit der Hempel'schen Methode schon erwiesen ist; doch kommen gewiss und besonders in der physiologischen Chemie zahlreiche Fälle vor, wo man genöthigt ist, die Bestimmung geringer Kalkmengen auszuführen.

Alsdann dürfte die Kenntniss der unten angegebenen Versuche vielleicht von einigem Nutzen sein. Angewendet wurde die Methode zuerst bei der Untersuchung menschlichen Speichels auf seinen Kalkgehalt, welche Dr. Lepkowski[2]) mit meiner Unterstützung ausführte.

Die titrimetrische Methode der Kalkbestimmung hat, wie die meisten Titrirmethoden, vor der gewichtsanalytischen den Vorzug leichterer und schnellerer Ausführbarkeit, namentlich bei Reihenuntersuchungen, und gibt selbst in den Händen eines ungeübten Chemikers gute Resultate.

Zu den Versuchen wurden die folgenden Lösungen angewendet:

1. Eine Lösung von Calciumchlorid (entsprech. 0,995 mgr. $CaCO_3$ in einem cbcm.).

---

[1]) Fresenius, Quantitative Analyse, I, S. 238.

[2]) Eine kurze Mittheilung der Untersuchung erscheint in dieser Zeitschrift.

2. $^1/_{50}$-N.-Oxalsäure (1,26 gr. wasserhaltige Oxalsäure in einem Liter).

3. Kaliumpermaganatlösung.

1 cbcm. $CaCl_2$-Lösung = 1 cbcm. Oxalsäure = 1,06 cbcm. Chamäleonlösung;

1 cbcm. Chamäleonlösung = 0,945 mgr. $CaCO_3$.

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

Bestimmte Mengen (1—3 cbcm.) der Calciumchloridlösung wurden auf etwa 20 cbcm. verdünnt, mit Ammoniak, dann mit Essigsäure bis zur sauren Reaction versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt. Alsdann wurden wenige Tropfen einer in der Kälte gesättigten Lösung von Ammonoxalat hinzugesetzt, die Flüssigkeit noch 10 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und 24 Stunden stehen gelassen. Die Fällung des Kalkes muss in der Wärme vorgenommen werden; anderenfalls zeigt der oxalsaure Kalk selbst nach mehrmaligem Filtriren der Flüssigkeit die Eigenschaft, durch das Filter zu gehen. Der krystallinische Niederschlag von Calciumoxalat wurde nach der angegebenen Zeit auf ein kleines Filter gebracht und mit heissem Wasser vollständig ausgewaschen. War die Fällung in der angegebenen Weise ausgeführt, so waren Filtrat und Waschwasser vollkommen klar. Zum Sammeln der Niederschläge bediente ich mich der Filter von Schleicher und Schüll No. 589, Durchmesser $5^1/_2$ cm., mit einem Aschengehalte von 0,04 mgr. Darauf wurde der Niederschlag auf dem Filter mit heisser verd. Schwefelsäure (5 cbcm. conc. ausgekochte Schwefelsäure auf 100 cbcm. Wasser) in Lösung gebracht und das Filter 5—6 mal mit wenig von derselben Flüssigkeit ausgewaschen, so dass das Filtrat im Ganzen 25—30 cbcm. betrug. Diese Flüssigkeit wurde direct mit Chamäleon titrirt, bis eben eine röthliche Färbung entstand. Wenn die ersten Tropfen der Permanganatlösung entfärbt sind, tritt die Reduction der übrigen selbst durch so stark verd. Oxalsäurelösungen, wie sie hier vorhanden waren, so schnell ein, dass man keinen Augenblick im Zweifel ist, wann das Ende der Titration erreicht ist. Man sieht die wenig intensive Färbung der Flüssigkeit am besten, wenn man das die Lösung enthaltende

Becherglas auf ein Blatt weissen Papiers stellt und die Flüssigkeit von oben betrachtet.

Angewendet wurden Büretten, welche in $^1/_{10}$ cbcm. getheilt waren. Es gelingt bei einiger Uebung leicht, noch Theile von $^1/_{10}$ cbcm. ziemlich genau abzuschätzen. $^1/_{100}$ cbcm. $KMnO_4$ mehr oder weniger verbraucht, macht schon bei 1 cbcm. $CaCl_2$-Lösung einen Fehler von 1 % $CaCO_3$ aus. Da bei den einzelnen Titrationen der Ueberschuss an Chamäleon über die zur Erzeugung der rothen Farbe eben nöthige Menge natürlich verschieden ist, so kommt es vor Allem darauf an, diesen Ueberschuss möglichst constant zu machen. Dies geschah in der Weise, dass nach Hinzufügung von Chamäleon bis zur ersten Rothfärbung abwechselnd je 1 cbcm. $^1/_{50}$-N.-Oxalsäure und dann wiederum Chamäleon bis zur Rothfärbung hinzugesetzt wurde. Geschah ein solcher Zusatz von 1 cbcm. Oxalsäure dreimal, so ergeben sich nach Abrechnung der für die hinzugefügte Oxalsäure berechneten Menge Chamäleon (1 cbcm. Oxalsäure = 1,06 cbcm. Chamäleon) für die zu bestimmende Oxalsäure vier Werthe (der ursprünglich erhaltene Werth mit einbegriffen), welche nur um wenige Hundertstel cbcm. differiren und deren Mittel in der folgenden Tabelle angegeben sind.

Ein Beispiel möge das Gesagte erläutern:

Bei Titrirung der unbekannten Menge Oxalsäure in der schwefelsauren Lösung waren verbraucht 2,08 cbcm. Chamäleon.

Nach Zusatz von 1 cbcm. $^1/_{50}$-N.-Oxals. 3,12 Chamäleon,
nach weiterem Zusatz von 1 cbcm. Oxals. 4,19 »
» » » » 1 » » 5,24 »

Die für die gesuchte Menge Oxalsäure verbrauchten cbcm. Chamäleon sind demnach:

1) 2,08; 2) $3,12 - 1,06 = 2,06$; 3) $4,19 - 2 \cdot 1,06 = 2,07$; 4) $5,24 - 3 \cdot 1,06 = 2,06$; im Mittel = 2,07 cbcm.

Um sicher zu sein, dass alle Oxalsäure aus dem Filter entfernt war, wurde dasselbe noch einmal mit der verd. Schwefelsäure ausgewaschen und das Filtrat nach Zusatz von 1 cbcm. $^1/_{50}$-N.-Oxalsäure mit Chamäleon titrirt. Die verbrauchte Menge

Kaliumpermanganat wurde in der oben angegebenen Weise controllirt. Es ergab sich jedoch, dass in den meisten Fällen die Oxalsäure schon beim ersten Auswaschen mit Schwefelsäure vollkommen entfernt war. Differenzen bis 0,03 cbcm. $KMnO_4$ zwischen den gefundenen und den für die zugesetzten cbcm. Oxalsäure berechneten Werthen wurden nicht berücksichtigt.

Der Zusatz von Oxalsäure zu dem 2. Waschwasser ist erforderlich. Bekanntlich werden die ersten Tropfen der Chamäleonlösung selbst bei Gegenwart von Oxalsäure nur langsam reducirt; andererseits wird eine mit Schwefelsäure angesäuerte und erwärmte Chamäleonlösung für sich nach einiger Zeit farblos. Man wusste also nicht, falls der Zusatz von Oxalsäure vermieden wird, ob eine Entfärbung von Kaliumpermanganat in dem 2. Waschwasser auf die Anwesenheit geringer Mengen von Oxalsäure oder auf Selbstzersetzung zurückzuführen ist.

Die Resultate der angestellten Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Angewandte Mengen		Gefundene Mengen		Differenzen:	
$CaCl_2$ =	$CaCO_3$	$KMnO_4$ =	$CaCO_3$	abs.	in %
3 cbcm.	2,985 mgr.	2,91 cbcm.	2,75 mgr.	— 0,235 mgr.	— 7,87 %
»	»	2,99 »	2,83 »	— 0,155 »	— 5,19 »
»	»	2,96 »	2,80 »	— 0,185 »	— 6,19 »
»	»	2,99 »	2,83 »	— 0,155 »	— 5,19 »
»	»	3,17 »	3,00 »	+ 0,015 »	+ 0,50 »
»	»	3,10 »	2,93 »	— 0,055 »	— 1,84 »
»	»	3,14 »	2,97 »	— 0,015 »	— 0,50 »
2 cbcm.	1,99 mgr.	2,11 cbcm.	1,99 mgr.	± 0,00 mgr.	± 0,00 %
»	»	1,96 »	1,85 »	— 0,14 »	— 7,04 »
»	»	2,06 »	1,95 »	— 0,04 »	— 2,01 »
»	»	2,09 »	1,98 »	— 0,01 »	— 0,50 »
»	»	1,97 »	1,86 »	— 0,13 »	— 6,53 »
»	»	2,10 »	1,98 »	— 0,01 »	— 0,50 »
1 cbcm.	0,995 mgr.	1,06 cbcm.	1,00 mgr.	+ 0,005 mgr.	+ 0,5 %
»	»	1,04 »	0,98 »	— 0,015 »	— 1,51 »
»	»	1,05 »	0,99 »	— 0,005 »	— 0,5 »
»	»	1,01 »	0,954 »	— 0,041 »	— 4,12 »
»	»	1,05 »	0,99 »	— 0,005 »	— 0,5 »
»	»	1,10 »	1,04 »	+ 0,045 »	+ 4,52 »

Der höchste abs. Verlust betrug bei 3 cbcm. $CaCl_2$-Lösung 0,235 mgr. $CaCO_3$, bei 2 cbcm. 0,14 mgr. und bei 1 cbcm.

0,045 mgr. Der höchste procentische Verlust war 7,87 %, der mittlere 2,34 %. In Anbetracht der kleinen Kalkmengen, um welche es sich hier handelt, ist ein solcher Verlust 2,34 % sicherlich nicht gross.

Auf Grund dieser Versuche kann man wohl behaupten, dass die titrimetrische Bestimmung geringer Mengen von Kalk in Bezug auf Genauigkeit von der gewichtsanalytischen kaum erreicht werden dürfte, geschweige denn übertroffen wird. Ausserdem gewährt die titrimetrische Methode bei Ausführung von Aschenanalysen den Vorzug, dass in Essigsäure unlösliche Verbindungen, wie Kieselsäure, Eisenphosphat etc., vor der Ausfällung des Kalkes durch Oxalsäure nicht entfernt werden brauchen; man erspart auf diese Weise das Filtriren und Einengen der filtrirten Flüssigkeiten.

Bei Ausführung von Kalkbestimmungen in Aschen hat man daher nur die Asche in verd. Salzsäure zu lösen und nach Versetzen mit Ammonacetat den Kalk in der Wärme durch Ammonacetat zu fällen. Die geringen Mengen von Kohle, welche wohl nach jeder Veraschung noch zurückbleiben und mit dem oxalsauren Kalke sich auf dem Filter befinden, haben keinen Einfluss auf die Bestimmung der Oxalsäure. Die folgenden zu diesem Zwecke angestellten Versuche beweisen dies:

Es wurden gemessene Mengen $CaCl_2$-Lösung mit 0,2 bis 0,5 gr. Weinstein unter Zusatz von etwas Ammoniak zur Trockne verdunstet und geglüht, so dass noch beträchtliche Mengen von Kohle zurückblieben. Nach dem Auflösen der Asche in verd. Essigsäure wurde der Kalk in der oben angegebenen Weise gefällt und die Oxalsäure mit Chamäleon titrirt.

Angewandte Mengen		Gefundene Mengen		Differenzen:	
$CaCl_2$-Lös. =	$CaCO_3$	$KMnO_4$ =	$CaCO_3$	abs.	in %
3 cbcm.	2,985 mgr.	3,15 cbcm.	2,98 mgr.	— 0,005 mgr.	— 0,17 %
2 cbcm.	1,99 mgr.	2,16 »	2,04 »	+ 0,05 »	+ 2,51 »
»	»	2,11 »	1,99 »	± 0,00 »	± 0,00 »
»	»	2,03 »	1,92 »	— 0,07 »	— 3,52 »
1 cbcm.	0,995 mgr.	1,08 »	1,02 »	+ 0,025 »	+ 2,51 »
»	»	1,07 »	1,01 »	+ 0,015 »	+ 1,54 »

Diese Versuche ergeben ein noch besseres Resultat, wie die obigen; im Mittel von 6 Analysen wurde das geringe Plus von 0,48 % $CaCO_3$ erhalten, ein Ergebniss, welches unzweifelhaft dafür spricht, dass beim Digeriren des durch Kohle verunreinigten oxalsauren Kalkes mit heisser verd. Schwefelsäure ausser der Oxalsäure keine weiteren reducirenden Substanzen aufgenommen werden.

Doch wäre es immerhin möglich, dass in den Gefässen, in welchen die Fällung des oxalsauren Kalkes vorgenommen und in welche die schwefelsaure Lösung desselben wieder hineinfiltrirt wurde, etwas Kohle zurückgeblieben wäre. Bei den geringen Mengen von Kalk oder Oxalsäure, um deren Bestimmung es sich hier handelt, müssten schon Spuren von Kohle, falls dieselbe beim Digeriren mit verd. Schwefelsäure und Chamäleon in der Wärme reducirend wirkte, den Verbrauch der Permanganatlösung erheblich beeinflussen. Doch lässt sich leicht zeigen, dass die Kohle unter diesen Verhältnissen noch nicht oxydirt wird. Die nach dem Lösen des oxalsauren Kalkes auf dem Filter gebliebene Kohle wurde mit verd. Schwefelsäure in ein Becherglas gespült und nach Zusatz von Oxalsäurelösung mit Chamäleon in der Wärme titrirt. In allen Fällen wurde nur die für die zugefügte Menge Oxalsäure berechnete Menge Permanganat verbraucht. Sollte dennoch unter den angegebenen Bedingungen schon eine Oxydation der Kohle stattfinden, so kann dieselbe nur so langsam und erst nach so langer Zeit merklich erfolgen, dass dadurch die Titration der Oxalsäure nicht beeinflusst wird. Es war auch bei diesen Versuchen kein Zweifel möglich, wann das Ende der Titration erreicht war.

Will man dennoch für die titrimetrische Bestimmung des Kalkes die Asche vollkommen kohlefrei haben, so besitzt man ja für diesen Zweck in dem Ammonnitrat und der conc. Schwefelsäure vorzügliche Mittel. Einzelne Veraschungen mit conc. Schwefelsäure wurden besonders aus dem Grunde ausgeführt, um zu zeigen, wie leicht der schwefelsaure Kalk durch Ammonoxalat umgesetzt wird. Bei Anwesenheit desselben sind keine besonderen Vorsichtsmassregeln zu beobachten.

Der nach dem Glühen des mit Weinstein versetzten Calciumchlorids gebliebene kohlige Rückstand wurde in verd. Schwefelsäure gelöst, die Lösung auf dem Wasserbade eingedampft und der Ueberschuss an Schwefelsäure durch gelindes Glühen vertrieben. Der Rückstand wurde mit heisser verd. Essigsäure in ein Becherglas gespült und der Kalk in der angegebenen Weise bestimmt.

Angewandte Mengen		Gefundene Mengen		Differenzen:	
$CaCl_2$-Lös. =	$CaCO_3$	$KMnO_4$ =	$CaCO_3$	abs.	in %
3 cbcm.	2,985 mgr.	3,17 cbcm.	3,06 mgr.	+ 0,015 mgr.	+ 0,5 %
»	»	3,20 »	3,02 »	+ 0,035 »	+ 1,17 »

Als 10 cbcm. der $CaCl_2$-Lösung in derselben Weise behandelt wurden, löste sich der schwefelsaure Kalk in der heissen verd. Essigsäure nicht vollständig. Ohne die Lösung abzuwarten, wurde sofort Ammonoxalat hinzugesetzt und die Flüssigkeit, wie oben, noch 10 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt. Auch jetzt war der schwefelsaure Kalk vollständig in oxalsauren Kalk verwandelt. Verbraucht wurden 10,4 cbcm. Chamäleon = 9,83 mgr. $CaCO_3$ anstatt 9,95 mgr. $CaCO_3$. Differenz abs. ist 0,12 mgr., Differenz in % — 1,21%.

Als weiterer Beweis für die Leichtigkeit der Umsetzung des schwefelsauren Kalkes zu Calciumoxalat mögen die folgenden in grösserem Massstabe ausgeführten Versuche angesehen werden:

2 gr. $CaSO_4$ wurden mit 10 gr. Ammonoxalat in 150 cbcm. Wasser 1 Stunde auf dem Wasserbade digerirt, dann filtrirt und der Filterrückstand mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen. Der getrocknete und geglühte Niederschlag löste sich leicht in verd. Salzsäure, die Lösung gab noch deutliche, doch nicht starke Reaction auf Schwefelsäure.

Bei einem 2. Versuche wurden 20 gr. Ammonoxalat mit 200 cbcm. Wasser und 25 cbcm. verd. Essigsäure auf dem Wasserbade erwärmt und in die heisse Lösung allmälig etwa 5 gr. fein gepulvertes Calciumsulfat hineingesiebt. Nach $^1/_2$stündigem Digeriren auf dem Wasserbade wurde abfiltrirt und

weiter, wie oben angegeben, verfahren. Es konnten diesmal nur Spuren von Schwefelsäure nachgewiesen werden.

Es lag der Gedanke nahe, die durch Titration der an Kalk gebundenen Oxalsäure in der von Kraut[1]) angegebenen Weise zu controlliren, indem man bei der Fällung des Kalkes eine gemessene Menge Oxalsäure anwandte und den Ueberschuss desselben titrimetrisch bestimmte.

Die in dieser Richtung angestellten Versuche führten nicht zu einem befriedigenden Resultate. Es wurde fast ausnahmslos mehr Chamäleonlösung verbraucht, als für den zur Fällung des Kalkes nicht verbrauchten Theil der Oxalsäure berechnet war. Ein Grund hierführ ist jedenfalls darin zu suchen, dass die Menge der Flüssigkeit, in welcher dieser Theil der Oxalsäure bestimmt werden sollte, für die Verwendung von $^1/_{50}$-N.-Chamäleon zu gross ist. Doch stand die mehr verbrauchte Menge der Chamäleonlösung durchaus nicht im Verhältniss zur Flüssigkeitsmenge, so dass ich eine sichere Erklärung für diese Erscheinung nicht anzugeben vermag, da ja auch die angewandten Reagentien Salzsäure und Essigsäure in so geringer Menge keinen schädlichen Einfluss auf die Titration mit Permanganat haben.

Zu den obigen Versuchen war eine $^1/_{50}$-N.-Chamäleonlösung gebraucht worden. Durch noch grössere Verdünnung müsste theoretisch eine grössere Genauigkeit der Resultate erzielt werden können. Doch zeigt sich schon bei der Feststellung des Titers von etwa $^1/_{100}$-N.-Chamäleon gegen $^1/_{50}$-N.-Oxalsäure, dass die Endreaction nicht scharf und nur schwer zu erkennen ist. Ich ziehe daher die $^1/_{50}$-N.-Chamäleonlösung vor.

---

[1]) Chem. Centralbl., 1856, S. 316.

Ueber die Bildung von Milchsäure und Glycose im Organismus bei Sauerstoffmangel.

Dritte Mittheilung.

Von

T. Araki.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.)
(Der Redaction zugegangen am 29. Februar 1892.)

I. Ueber die Einwirkung künstlicher Abkühlung.

Es ist wohlbekannt, dass künstliche Abkühlung warmblütiger Thiere durch Schnee- oder Eisbäder eine Reihe charakteristischer Erscheinungen zur Folge hat. Die Athemzüge werden seltener und oberflächlich, die Athmung wird daher bald unzureichend. Der Blutdruck in Arterien sinkt allmälig bis auf 0, während das Herz sich langsam und seltener, aber doch energisch contrahirt.

Cl. Bernard[1]) gibt an, dass die Muskeln abgekühlter Thiere sich auffallend lange reizbar erhalten, sowohl für directe Reize, als für die Reizung von den Nerven aus, wie die der durch Sauerstoffmangel getödteten Thiere.

Horvath[2]) beobachtete, dass Thiere gewöhnlich unter der Erscheinung des Tetanus sterben, wenn ihre Körpertemperatur durch Eintauchen ihres Körpers in Wasser von 0° auf 19° C. herabgesetzt wird, dass sie dagegen eine bedeutend stärkere Abkühlung aushalten können, wenn während der Abkühlung bei ihnen künstliche Respiration unterhalten wird.

---

1) Leçons de physiol. expérim., cours du semestr. d'hiver, 1855, p. 183.

2) Arch. f. d. gesammt. Physiol., Bd. 12, S. 278.

Nach den oben angeführten Beobachtungsresultaten dürfen wir kaum zweifeln, dass hier auch Sauerstoffmangel sich einstellt und in Folge dessen abnorme Bestandtheile, wie Eiweiss, Zucker und Milchsäure im Harne ausgeschieden werden. In der That gelang es schon Boehm[1]), bei der Katze ohne alle weitere Eingriffe, nur durch häufig wiederholte Eisbäder Glycosurie zu erzeugen. Er machte aber diese Beobachtung bei einem Versuche, welchen er mit der Absicht ausgeführt hatte, die Frage zu entscheiden, ob die nach dem Aufbinden des Thieres immer auftretende Erniedrigung der Körpertemperatur an der Entstehung des von ihm entdeckten Fesselungsdiabetes betheiligt sei, und es war nicht seine Aufgabe, das Wesen der durch die Abkühlung bedingten Glycosurie weiter zu untersuchen.

Es scheint mir daher von Werth zu sein, die Einwirkung der künstlichen Abkühlung auf verschiedene Thierarten genauer zu studiren und über die Ursache dieser Glycosurie nähere Aufschlüsse zu gewinnen. Ich habe zu diesem Zwecke einige Versuche an Kaninchen und Hunden angestellt, welche in Kürze hier mitgetheilt werden sollen.

I. Versuche an Kaninchen.

Die vorher gut genährten Kaninchen wurden mit Schnee bedeckt und die Temperatur von Zeit zu Zeit in ano gemessen. Sobald die Temperatur unter 26° C. gesunken war, wurde das Thier aus dem Schnee herausgenommen und in einen mit Heu gefüllten Kasten gebracht.

Der Urin wurde direct aus der Blase ausgepresst und dann nach der früher beschriebenen Methode auf Eiweiss, Zucker und Milchsäure untersucht.

1. Versuch. 14. Januar 1892. Ein kräftiges Kaninchen wurde um 9 Uhr Vorm. in Schnee eingebettet und damit überdeckt, so dass nur der Kopf herausragte. Da die Temperatur 11 Uhr 20 Min. Vorm. schon auf 26° C. gesunken war, so wurde das Thier aus dem Schnee befreit und auf den Tisch gelegt. 4 Uhr Nachm. war die Temperatur auf 25° C. gesunken.

---

[1]) Arch. für experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. VIII, S. 302—401.

Das Thier wurde 4 Uhr 25 Min. in den mit Heu gefüllten Kasten gebracht und dieser in ein mässig geheiztes Zimmer gestellt.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Zinklactat.
40 cbcm.	sauer	viel	2,5 %	0,686 gr.

Am anderen Morgen befand sich das Thier ganz wohl. Keine Spur von Zucker liess sich im Urin nachweisen.

2. Versuch. 16. Januar 1892. 9 Uhr Vorm. wurde ein grosses Kaninchen bis zum Hals mit Schnee bedeckt. Um 11 Uhr Vorm. war die Körpertemperatur 26° C. in ano. Das Thier wurde gleich in warme Tücher eingewickelt und in ein vorher geheiztes Zimmer gebracht. 4 Uhr Nachm. war das Thier todt. Aus der Blase wurde sehr wenig Urin gewonnen, welcher vollkommen frei von Zucker war.

3. Versuch. 17. Januar 1892. Von 9 Uhr 35 Min. Vorm. bis um 11 Uhr 20 Min. wurde das Kaninchen mit Schnee abgekühlt, so dass schliesslich die Temperatur in ano auf 24° C. gesunken war. 3 Uhr Nachm. war das Thier zu Grunde gegangen, trotzdem es sorgfältig in warme Tücher eingewickelt und in ein geheiztes Zimmer gebracht worden war. Kein Harn in der Blase.

4. Versuch. 18. Januar 1892. Ein kleines Kaninchen wurde 9 Uhr Vorm. mit Schnee bedeckt und so weit abgekühlt, dass die Temperatur in ano auf 28° C. gesunken war. 10 Uhr 40 Min. wurde das Thier aus dem Schnee herausgenommen und zwei Stunden lang in nicht geheiztem Zimmer gehalten; erst 1 Uhr Nachm. in Heu eingewickelt und in die geheizte Stube gebracht. Um 6 Uhr wurde Urin aus der Blase ausgedrückt, der alkalische Kupferlösung stark reducirte. Um 6 Uhr 30 Min. war die Temperatur in ano 26° C.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
35 cbcm.	alkalisch	viel	0,85 %	0,52 gr.

Am folgenden Tage war das Thier todt. Der aus der Blase gewonnene Harn zeigte schöne Trommer'sche Reaction. Leider ist es mir wegen geringer Quantität nicht gelungen, Zucker und Milchsäure quantitativ zu bestimmen.

5. Versuch. 23. Januar 1892. Zwei Kaninchen wurden zum Versuche verwendet.

A. Kaninchen wurde von 9 Uhr 20 Min. bis um 11 Uhr 30 Min. der Abkühlung ausgesetzt. Die Körpertemperatur war schliesslich in ano 27° C. Um 1 Uhr Nachm. wurde es mit Heu eingehüllt und in ein geheiztes Zimmer gebracht.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
50 cbcm.	alkalisch	viel	1,5 %	0,645 gr.

B. Kaninchen wurde ganz gleich behandelt, wie A. Nach der Abkühlung war die Körpertemperatur in ano 26° C.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
30 cbcm.	alkalisch	viel	0,75 %	0,63 gr.

Zur bequemeren Uebersicht stelle ich die geschilderten an Kaninchen erhaltenen Resultate in folgender Tabelle zusammen:

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
14. 1. 92	40 cbcm.	sauer	viel	2,5 %	0,686 gr.
16. 1. 92	—	—	—	—	—
17. 1. 92	—	—	—	—	—
18. 1. 92	35 cbcm.	alkalisch	viel	0,85 %	0,52 gr.
23. 1. 92 A	50 »	»	»	1,5 »	0,645 »
23. 1. 92 B	30 »	»	»	0,75 »	0,63 »

Der Zuckergehalt wurde immer mit dem Polarisationsapparate bestimmt.

Die gewonnenen Zinksalze wurden vereinigt mit absolutem Alkohol gereinigt und theils zur Zinkbestimmung, theils zur Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung verwendet.

0,248 gr. Substanz bei 115° C. getrocknet, ergaben 0,099 gr. ZnS = 26,72 %.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %	26,72 % Zn.

0,258 gr. Substanz bei 115° C. getrocknet, ergaben 0,284 gr. CO_2 und 0,091 gr. H_2O.

	Berechnet:	Gefunden:
C	29,63 %	30,00 %
H	4,11 »	3,91 »
Zu	26,74 »	26,72 »

$(C_3H_5O_3)_2Zn$.

Die Ergebnisse dieser 5 Versuche machen es unzweifelhaft, dass eine Abkühlung bei Kaninchen stets Sauerstoffmangel verursacht und die Ausscheidung von Eiweiss, Zucker und Milchsäure im Harne zur Folge hat. Zur Bekräftigung dieser Behauptung dient auch die folgende Reihe von Versuchen.

II. Versuche an Hunden.

6. Versuch. 15. Januar 1892. Ein kleiner Hund wurde um 9 Uhr Vorm. in Schnee vollkommen eingehüllt und hierdurch so weit abgekühlt, dass die Temperatur in ano auf 28° C. gesunken war. 12 Uhr 20 Min. wurde er aus dem Schnee herausgenommen und 2 Stnnden lang in ein nicht geheiztes Zimmer gelegt. 2 Uhr 30 Min. war die Temperatur in ano 23° C. Gleich nach der Abmessung der Temperatur erfolgte der Tod.

Urinmenge.	Reaction	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
60 cbcm.	sauer	viel	1,5 %	0,24 gr.

7. Versuch. 28. Januar 1892. Ein kleiner Hund wurde 9 Uhr 30 Min. Vorm. in Eiswasser eingetaucht. Als die Temperatur in ano auf 26° C. gesunken war, wurde er 10 Uhr 20 Min. aus dem Wasser herausgenommen, in warme Tücher

eingewickelt und in ein mässig geheiztes Zimmer gelegt. Abends 6 Uhr lieferte er 67 cbcm. Harn.

Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
67 cbcm.	sauer	viel	1 %	0,512 gr.

Am folgenden Tage befand sich das Thier ganz wohl und im Urin liess sich gar kein Zucker mehr nachweisen.

Die Ergebnisse dieser zwei Versuche sind folgende:

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
15. 1. 92	60 cbcm.	sauer	viel	1,5 %	0,24 gr.
28. 1. 92	67 »	»	»	1,0 »	0,512 »

Der Zuckergehalt wurde auch mit dem Polarisationsapparate bestimmt.

Es ist Glycosurie noch als Folge mancher anderer Einwirkungen angegeben, aber es hat die Entstehung derselben bisher keine befriedigende Erklärung gefunden.

Schiff[1]) zeigte, dass die Unterbindung der Hauptgefässe der Extremitäten bei der Katze Zuckerausscheidung im Urin hervorrief. Boehm[2]) fand, dass fast bei allen Thieren der Harn nach der Wiederbelebung reichlich zuckerhaltig war; er beobachtete[2]) auch, dass Katzen nach Durchschneidung beider Ischiadici Glycose im Harn ausschieden.

Wie die letztere Glycosurie zu Stande kommt, ist noch nicht genügend aufgeklärt. Es wird sich mir wahrscheinlich bald Gelegenheit ergeben, diesen Gegenstand weiter zu verfolgen.

II. Wirkung des Veratrins.

Zu den Versuchen werden nur Frösche verwendet.

1. Versuch. 12. December 1891. 27 Fröschen wurden 10 Uhr Vorm. jedem circa $^1/_{10}$ mgr. Veratrin in alkoholischer Lösung subcutan injicirt. 30 Minuten nach der Injection

[1]) Journ. de l'anatom. et de physiol., 1866.

[2]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. VIII, S. 99.

erschienen die Bewegungen der Thiere sehr ungeschickt und ungeordnet; der Behälter war mit Schaum gefüllt. Eine Stunde nachher waren die Thiere vollkommen gelähmt. Abends 6 Uhr wurden 18 cbcm. Harn aus der Blase ausgedrückt. Am folgenden Tage waren sie noch betäubt, gaben 19 cbcm. Harn. Die beiden Portionen des Harns wurden vereinigt und zur Darstellung der Milchsäure verwendet.

Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
37 cbcm.	neutral	vorhanden	0,062 gr.

2. Versuch. 23. December 1891. 26 Frösche wurden um 9 Uhr 30 Min. Vorm. mit derselben Dosis von Veratrin, wie im 1. Versuche, vergiftet. Von Abends bis zum andern Morgen lieferten sie 29 cbcm. Urin.

Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
29 cbcm.	alkalisch	vorhanden	0,071 gr.

3. Versuch. 10. Januar 1892. 17 Frösche wurden gleich behandelt, wie im 1. und 2. Versuche. Sie gaben von Abends bis zum nächsten Tage 20 cbcm. Urin.

Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
20 cbcm.	alkalisch	vorhanden	0,026 gr.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Zucker.	Milchsaures Zink.
14. XII.	37 cbcm.	neutral	vorhanden	0,062 gr.
23. XII.	29 »	alkalisch	»	0,071 »
10. I.	20 »	»	»	0,026 »

Der Zucker wurde immer durch Trommer's Probe und Prüfung mit Phenylhydrazin nachgewiesen.

Die Ursache der Wirkung des Veratrins auf die Ausscheidung von Zucker und Milchsäure werde ich in meiner nächsten Mittheilung über die Einwirkung anderer Gifte näher zu besprechen Gelegenheit haben.

Ueber das Verhalten der Milch und ihrer wichtigsten Bestandtheile bei der Fäulniss.

Von

Hugo Winternitz.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Strassburg.)

(Der Redaction zugegangen am 1. März 1892.)

Die Bedeutung der Milch als Nahrungsmittel ist hinreichend gewürdigt und es wäre müssig, darüber Worte zu verlieren. Die Zusammensetzung der Milch, die Verhältnisse ihrer Resorbirbarkeit und, im Zusammenhang damit, ihre Ausnutzung im Darmkanal sind erschöpfend untersucht worden.

Weniger gewürdigt ist eine Eigenschaft der Milch, welche gerade für ihre Verwendung in diätetischer Hinsicht von nicht zu unterschätzender Bedeutung ist, nämlich ihre fäulnisshemmende Wirkung, wie ich diese Eigenschaft vorweg bezeichnen will.

Es ist eine Erfahrung des täglichen Lebens, dass die Milch an sich wenig oder gar keine Neigung zur Fäulniss zeigt und dass sie auch Substanzen, welche im Uebrigen der Fäulniss ausserordenttich leicht anheimfallen, wie z. B. Fleisch, bis zu einem gewissen Grade vor Fäulniss schützt. Es ist dies eine Erfahrung, von der gelegentlich in der Haushaltung Gebrauch gemacht wird.

Man könnte auf den ersten Blick geneigt sein, diese Einwirkung der Milch den Säuren zuzuschreiben, welche bei den fermentativen Spaltungsprocessen in der Milch so reichlich in Freiheit gesetzt werden. Allein die Untersuchungen von Hirschler[1]) über die Beeinflussung der Fäulnissvorgänge

[1]) Diese Zeitschr., Bd. X, «Ueber den Einfluss der Kohlehydrate etc. auf die Eiweissfäulniss».

durch Kohlehydrate, bei welchen die Verhältnisse ähnlich liegen, haben gezeigt, dass diese fäulnisshemmende Wirkung der Kohlehydrate auch dann erhalten bleibt, wenn die Säurewirkung in geeigneter Weise ausgeschlossen wird.

Zweck der im Nachstehenden mitzutheilenden Untersuchungen war, festzustellen, in welcher Weise und in welchem Umfange die Milch ihren Einfluss auf Fäulnissvorgänge geltend macht. Den Ausgangspunkt und die Grundlage für diese Untersuchungen bildeten Versuche, welche ausserhalb des Organismus angestellt wurden; des Weiteren wurde dann durch das Thierexperiment festzustellen gesucht, ob und inwieweit die ausserhalb des Organismus stattfindenden Vorgänge auch auf die Verhältnisse im Organismus, beziehungsweise im Darmkanal übertragen werden können.

I. Versuche über den Einfluss der Milch auf Fäulnissvorgänge ausserhalb des Organismus.

Der Weg, welcher eingeschlagen werden musste, um den Einfluss der Milch auf Fäulnissvorgänge, namentlich auf die durch Eiweiss bedingte Fäulniss, kennen zu lernen, ist durch die Untersuchungen zahlreicher Forscher genau vorgezeichnet. Bei der Fäulniss des Eiweisses entstehen, so weit bisher bekannt ist, anfänglich dieselben Producte, welche auch bei der Pankreasverdauung unter Ausschluss der Fäulniss entstehen, nämlich Albumosen, ferner Leucin, Tyrosin und Ammoniak. Die Zersetzung geht aber bei der Fäulniss alsbald rasch weiter und liefert namentlich Oxysäuren, Phenol, Indol und Skatol, ferner flüchtige Fettsäuren und eine Reihe von Gasen, die sich bei Gegenwart von Wasserstoff in statu nascendi bilden. Nach Nencki ist für die Fäulnissvorgänge namentlich charakteristisch die Entstehung von Indol. Salkowski[1]), der über die Bildung von Indol unter den verschiedensten Bedingungen eingehende Untersuchungen angestellt hat, kommt zu dem Schlusse, dass in Flüssigkeiten,

---

[1]) E. Salkowski, «Zur Kenntniss der Eiweissfäulniss», diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 417.

welche nach 24 Stunden (unter Bedingungen, welche die Fäulniss begünstigen) kein nachweisbares Indol enthalten, eine wesentliche bacteritische Eiweisszersetzung nicht stattfindet.

Diese Producte sind es also namentlich, welche bei den betreffenden Untersuchungen berücksichtigt werden mussten. Ausserdem hat mich noch der Nachweis eines seiner Natur nach wenig gekannten Körpers beschäftigt, der mit Chlor- oder Bromwasser eine schöne purpurrothe Färbung beziehungsweise Fällung gibt, Bromkörper, Tryptophan (nach Neumeister), Proteinochromogen beziehungsweise Proteinochrom (nach Stadelmann) genannt, lauter Bezeichnungen für ein und denselben Körper. Da dieser Körper aber ausser bei reiner Trypsinverdauung von Eiweiss nur durch Fäulniss u. zw. gleichzeitig mit Leucin und Tyrosin entsteht, so ist die darauf gerichtete Untersuchung gerechtfertigt[1]). Die Art

[1]) Die Beschäftigung mit diesem Körper hat zu Beobachtungen geführt, welche mit den vorliegenden Untersuchungen nicht direct im Zusammenhang stehen und daher an dieser Stelle in Kürze mitgetheilt werden. Die über den Bromkörper handelnde Literatur findet sich übersichtlich zusammengestellt bei Stadelmann, «Ueber das beim tiefen Zerfall der Eiweisskörper entstehende Proteinochromogen, den die Bromreaction gebenden Körper» (Zeitschr. f. Biologie, Bd. 26). Während die Einen zur Anstellung der Reaction Chlorwasser empfehlen, ziehen Andere Bromwasser vor und führen namentlich an, dass ein Ueberschuss von Brom weit weniger schädlich sei als ein Chlorüberschuss (Stadelmann). Dem kann ich nach meinen Erfahrungen nur bedingt zustimmen. Ist dieser Körper reichlich vorhanden, dann bedarf es allerdings einer verhältnissmässig grossen Menge Bromwasser, um ihn vollständig auszufällen, und ein Ueberschuss von Brom zerstört den Körper nicht, sondern beeinflusst höchstens die Farbenreaction. Ist der Körper dagegen in sehr geringer Menge vorhanden, dann vereitelt schon der geringste Ueberschuss von Brom den Eintritt der Farbenreaction. Unter Umständen tritt bei Zusatz eines Tropfens Bromwasser zu der betreffenden Probe absolut keine Farbenreaction ein, höchstens geringe Trübung, während die Probe mit einer geringen Menge Bromdampf geschüttelt schön rothviolette Färbung annimmt. (Ein gefärbter Niederschlag tritt in solchen Fällen erst bei längerem Stehen ein.) Auf die Nichtbeachtung dieser Verhältnisse ist es vielleicht zurückzuführen, wenn angegeben wird, dass das in der Verdauungsflüssigkeit enthaltene «Proteinochromogen» bei zu lange fortgesetzter Verdauung wieder zerstört wird. Ich habe den Bromkörper in Verdauungsflüssigkeiten — hergestellt durch Extraction eines fein zer-

der Untersuchung ist genugsam bekannt und eine genaue Beschreibung daher überflüssig. Ganz im Allgemeinen skizzirt, war der eingeschlagene Gang folgender: Von der zu untersuchenden Flüssigkeit wurde ungefähr ein Drittel überdestillirt, in dem Destillat Indol, Skatol und Phenol getrennt und durch die ihnen zukommenden Reactionen nachgewiesen. Der Rückstand nach der ersten Destillation wurde filtrirt, eingedampft, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Der ätherische Extract wurde zum Nachweis der Oxysäuren verwendet, der Rückstand zum Nachweis und zur Trennung von Leucin und Tyrosin. Ferner wurde entweder direct in dem eingedampften Rückstande nach der ersten Destillation oder aber auch, nachdem derselbe mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether extrahirt worden war, der Nachweis des Bromkörpers geführt.

---

hackten Rindspankreas mit Wasser — zu jeder beliebigen Zeit, nachdem er einmal gebildet war, nachweisen können. Ja selbst nach achttägigem Stehen bei Zimmertemperatur, nachdem bereits intensive Fäulniss unter Bildung von Schwefelwasserstoff eingetreten war, liess sich der Bromkörper leicht und sicher nachweisen. Auch bei vorgeschrittener Fäulniss von Casein unter reichlicher Bildung von Indol, Skatol und Phenol (siehe die Tabelle III, Seite 471) liess sich der Bromkörper nachweisen. Dagegen scheint er bei einer von Anfang an sehr energisch einwirkenden Fäulniss rascher zerstört, beziehungsweise umgewandelt zu werden. Wenigstens habe ich ihn in einem Pankreasextract, das bei einer Temperatur von 30 Graden unter Luftabschluss aufbewahrt wurde, schon nach 3 Tagen nicht mehr nachweisen können. Die Angaben der Autoren, dass er mit Wasserdämpfen nicht flüchtig ist und durch Kochen nicht zerstört wird (Stadelmann und Neumeister gegen Kruckenberg und Hemala), kann ich vollauf bestätigen. Ich habe daher den Nachweis dieses Körpers — namentlich wenn gleichzeitig auf Indol und andere Fäulnissproducte zu untersuchen war — meist erst im eingedampften Rückstand nach der ersten Destillation geführt, wo dieser Nachweis zu einem beliebigen, späteren Zeitpunkt vorgenommen werden kann.

Ueber die Zeit seiner Entstehung bei Pankreasverdauung kann ich folgende Angaben machen. Bereitet man sich aus frischem, fein zerhacktem Rindspankreas durch einstündige Extraction mit Wasser eine Verdauungsflüssigkeit und bewahrt dieselbe im Trockenschrank bei einer Temperatur von 40° auf, so ist der Bromkörper längstens nach Ablauf von 30 Minuten deutlich nachweisbar. Versetzt man diese Verdauungsflüssigkeit vorher mit fein zerhacktem Fibrin, so ist der Brom-

Die Versuchsanordnung war in allen Fällen folgende: Die Versuchsflüssigkeiten, z. B. Pankreasextract und Milch, wurden in Flaschen gebracht, welche damit höchstens zu zwei Drittel ihres Inhalts gefüllt waren. Die Flaschen wurden mit Kautschuckstopfen verschlossen, in deren Bohrung ein unter zwei rechten Winkeln gebogenes Glasrohr eingepasst war, das

---

körper nach derselben Zeit viel reichlicher vorhanden, was nicht Wunder nehmen wird. Selbstredend wurde die Verdauungsflüssigkeit vor ihrer Verwendung auf die Anwesenheit des Bromkörpers geprüft.

Bereitet man sich aus der Schleimhaut eines Schweinemagens (nachdem dieselbe vorher fein zerhackt und eine Stunde lang in fliessendem Wasser ausgewaschen wurde) eine Verdauungsflüssigkeit, die im Liter zwei Gramm Chlorwasserstoffsäure enthält, und versetzt dieselbe mit fein zerhacktem Fibrin, so ist bei einer Temperatur von 40° der Bromkörper nach Verlauf von längstens sieben Stunden deutlich nachweisbar. Die Reaction nimmt mit der Länge der Versuchsdauer an Intensität zu. In dem künstlich bereiteten Magensaft, ohne Zusatz von Fibrin, ist der Bromkörper auch nach zwölfstündiger (auf diese Zeit habe ich meine Beobachtungen ausgedehnt) Einwirkung einer Temperatur von 40° nicht nachweisbar. Dies ist wichtig, weil gegen die Angaben von Hoppe-Seyler, dass bei fortgesetzter Pepsinverdauung Leucin und Tyrosin gebildet werde, der Einwand erhoben wurde, dass für die Entstehung dieser Körper Verunreinigungen der Magenschleimhaut massgebend seien. Dieser auf Veranlassung des Herrn Professor Hoppe-Seyler unternommene Versuch bestätigt neuerdings die Richtigkeit seiner Ansicht, dass der direct aus der Magenschleimhaut bereitete künstliche Magensaft viel wirksamer ist als alle künstlich dargestellten Pepsine, welche, wie gar nicht bestritten werden soll, eine so tiefgehende Spaltung nicht zu Stande bringen, was indess nur beweist, dass sie auf dem Wege der Reindarstellung an Wirksamkeit wesentlich eingebüsst haben, wie sie denn auch die Spaltung in Albumosen erst nach unverhältnissmässig längerer Einwirkung bewirken.

Ich muss indess nochmals betonen, dass man bei Zusatz des Bromwassers, falls der Körper nur in Spuren vorhanden ist, nicht genug Geduld aufwenden kann; dafür ist aber die eintretende Reaction so charakteristisch, dass jede Verwechslung ausgeschlossen erscheint. Man thut am besten, wenn man nach jedem neuerlichen Zusatz von Brom die Probe gut umschüttelt und den Eintritt der Farbenreaction abwartet.

In den nachfolgenden Mittheilungen habe ich der Kürze halber die Bezeichnung Bromkörper gewählt, wenn dieselbe auch sicherlich nicht so correct ist als der von Stadelmann vorgeschlagene Name Proteinochromogen.

mit seinem Ende in ein Fläschchen mit Quecksilber taucht. Durch diese Anordnung wurde der Zutritt der Luft verhindert, gleichzeitig aber das Entweichen der sich entwickelnden Gase ermöglicht. Ueberdies war die Einrichtung so getroffen, dass der ganze Flaschenapparat in beide Hände gefasst und gut umgeschüttelt werden konnte, was wiederholt geschah, um eine gleichmässige Vertheilung des Inhaltes zu erreichen. Die so verwahrten Flüssigkeiten wurden nun auf einem grossen Wasserbad bei einer Temperatur von ca. 30° verschieden lange Zeit belassen und nach Unterbrechung des Versuches gleichzeitig der Untersuchung zugeführt. Durch diese Anordnung waren für die äusseren Bedingungen, unter denen die Flüssigkeiten der Fäulniss überlassen wurden, möglichst gleichartige Verhältnisse geschaffen. Mit Rücksicht auf die Zeitdauer, auf das fäulnissfähige Eiweissmaterial und auf die Menge der zugesetzten Milch wurden die Versuche dann jeweils modificirt.

Versuch I. 100 gr. Fleisch werden fein zerhackt, mit 200 cbcm. Wasser unter häufigem Umrühren eine Stunde lang extrahirt und durch Leinwand colirt, 40 gr. Calciumcarbonat in der Reibschale mit Wasser fein verrieben und dem Fleischextract zugesetzt. Die so erhaltene Mischung wurde mit Wasser auf ein Volumen von 500 cbcm. aufgefüllt und mit 500 cbcm. Milch versetzt. In derselben Weise wurde eine Versuchsflüssigkeit aus 100 gr. Rindspankreas, das vorher von Fett und Blutgefässen freipräparirt worden war, hergestellt. Auf diese Weise waren für beide Versuchsflüssigkeiten möglichst gleichartige Bedingungen geschaffen. Bei allen Versuchen war dieser Vorgang massgebend. Als dritte Versuchsflüssigkeit dienten 500 cbcm. Milch, denen 40 gr. $CaCO_3$ und 500 cbcm. Wasser zugesetzt waren. (Der Zusatz von Wasser schien in allen Fällen namentlich deshalb geboten, weil die Milch sonst zu einer so dicken Masse gerinnt, dass auch durch Schütteln eine gleichmässige Vertheilung des Inhaltes nicht gut zu erreichen ist.) Diese drei Portionen wurden in der früher angegebenen Weise vier Tage lang auf dem Wasserbade belassen und nach Ablauf dieser Zeit gleichzeitig der Unter-

suchung zugeführt. Das Ergebniss derselben ist aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle I.

Untersuchung nach 4 Tagen.	Milchportion.	Fleischportion.	Pankreasportion.
Pepton	vorhanden	vorhanden	vorhanden
Bromkörper	fehlt	vorhanden	reichl. vorhanden
Leucin und Tyrosin. .	fehlt	vorhanden	reichl. vorhanden
Hydroparacumarsäure .	fehlt	schwache Reaction	sehr schwache Reaction
Indol und Skatol. . .	fehlen	fehlen	fehlen
Phenol	fehlt	fehlt	fehlt

Es erschien überflüssig, etwa der Controlle wegen, Fleisch- oder Pankreasextract ohne Zusatz von Milch der Fäulniss zu überlassen, da bekannt ist, dass dieselben in der kürzesten Zeit einer intensiven Fäulniss anheimfallen und die beim tiefen Eiweisszerfall entstehenden Producte in reichlicher Menge liefern.

Versuch II. Der Versuch I wurde in analoger Weise wiederholt, nur mit dem Unterschiede, dass die Portionen erst um 24 Stunden später untersucht wurden, die Dauer des Versuches also auf fünf Tage ausgedehnt wurde. Das Ergebniss war im Wesentlichen das gleiche, ich unterlasse es daher, das ausführliche Protocoll mitzutheilen. Besonders zu erwähnen wäre, dass auch bei fünftägiger Versuchsdauer in keiner Portion Indol, Skatol oder Phenol nachweisbar war. Die Prüfung auf Hydroperacumarsäure ergab auch hier nur Spuren, da beim Kochen mit Millon's Reagens blos schwache Rothfärbung sich einstellte, ohne dass beim Erkalten eine Trübung eintrat, beziehungsweise ein roth gefärbter Niederschlag ausfiel.

Bei Wiederholung der Versuche I und II erhielt ich constant dasselbe Resultat. Dagegen bin ich bei sechstägiger Versuchsdauer zu übereinstimmenden Resultaten nicht gelangt, indem bei der Fleischportion Indol bald nachgewiesen werden konnte, bald nicht. In der Milch- und Pankreasportion fehlte

es auch bei sechs- und siebentägiger Einwirkung constant. Dass die Resultate in dieser Richtung bei der Fleischportion nicht übereinstimmten, wird kaum Wunder nehmen, wenn man bedenkt, dass es sich hier um die Function kleinster Lebewesen handelt, deren Regulirung wir keineswegs in der Hand haben, auch wenn man die äusseren Bedingungen noch so gleichartig zu gestalten sucht. Die Fäulnissprocesse verlaufen eben nur qualitativ in gleicher Weise, quantitativ dagegen sehr verschieden, indem bald mehr der eine, bald mehr der andere Körper gebildet wird. Bei dem Umstande, dass im Allgemeinen Pankreas für fäulnissfähiger gilt als Fleisch, bleibt es immerhin auffallend, dass zu einer Zeit, wo in der Pankreasportion Indol oder Skatol nie nachgewiesen werden konnten, die Fleischportion diese Körper meist schon enthielt. Verwendet man statt eines Fleischextractes das Fleisch in Substanz und bringt es fein zerhackt in Milch ein, so findet der Zerfall des Eiweisses bis zur Bildung von Indol verhältnissmässig früher statt und es kann schon bei einer Versuchsdauer von fünf Tagen zur Bildung von Indol kommen. Dies dürfte sich ungezwungen so erklären lassen, dass es im Innern der Fleischstücke, wo der Einfluss der Milch sich nicht geltend macht, früher zur Bildung von Wasserstoff in statu nascendi kommt, was dann zu einer rascheren Indolbildung Veranlassung gibt.

Um den Einfluss, welchen die Milch auf die Fäulnissvorgänge nimmt, richtig ermessen zu können, schien mir eine Ergänzung der mitgetheilten Versuche in der Richtung geboten, dass festgestellt wurde, ob auch die Spaltung des Eiweisses in Leucin und Tyrosin durch die Gegenwart der Milch wesentlich verzögert wird oder nicht. Um diese Frage zu untersuchen, habe ich mich auf den Nachweis des Bromkörpers, welcher mittels Chlor- oder Bromwasser leicht und sicher zu führen ist, beschränkt. Nach allen bisherigen Erfahrungen deutet die Anwesenheit des Bromkörpers auf einen tiefen Zerfall des Eiweisses unter gleichzeitiger Bildung von Leucin und Tyrosin hin, und es spricht daher die Gegenwart dieses Körpers unbedingt für die Anwesenheit von Leucin und Tyrosin,

deren Nachweis, namentlich bei geringen Mengen, ungleich schwieriger zu führen ist[1]). Die nachfolgende Tabelle gibt über die Zeit der Entstehung des Bromkörpers, somit über die Anwesenheit von Leucin und Tyrosin, Aufschluss.

Tabelle II.

	Extract aus 100 gr. Pankreas + 500 cbcm. Milch + 40 gr. $CaCO_3$.	Extract aus 100 gr. Fleisch + 500 cbcm. Milch + 40 gr. $CaCO_3$.	Bemerkungen.
Bromkörper	vorhanden	nicht vorhanden	Nach 24 Stunden untersucht.
Bromkörper	vorhanden	vorhanden	Nach 44 Stunden untersucht.
Hydroparacumarsäure.	fehlt	fehlt	

In der Pankreasportion war, wie aus dieser Tabelle hervorgeht, der Bromkörper bei der Untersuchung nach 24 Stunden nachweisbar, während er in der Fleischportion sich nicht auffinden liess. Da aber gleichzeitig jede Spur von Hydroparacumarsäure fehlte, so ist hier an eine Fäulnisswirkung nicht zu denken, sondern es handelt sich lediglich um eine Spaltung, welche durch die Anwesenheit des Pankreasextractes bedingt ist, dessen fermentative Wirksamkeit durch die Milch nicht wesentlich beeinträchtigt wird. In der Fleischportion dagegen fehlte der Bromkörper auch zu einer Zeit, wo ein Fleischextract ohne Zusatz von Milch längst schon die Spaltung bis zur Bildung von Indol, Phenol und Schwefelwasserstoff erfahren hatte.

Nachzutragen wäre noch, dass ich bei den Versuchen I und II, sowie bei anderen, hier nicht ausführlich mitgetheilten, gelegentlich auf die Anwesenheit von Alkohol untersucht habe. Es wurden hierzu die ersten Cubikcentimeter Flüssigkeit, welche bei der Destillation der betreffenden Portionen übergingen, verwendet und in der bekannten Weise geprüft. Stets entstand ein mehr oder weniger erheblicher Niederschlag von Jodoform, der für die Anwesenheit von Alkohol sprach.

---

[1]) Neumeister, «Beiträge zur Chemie der Verdauungsvorgänge», Würzburg 1889.

Es schien von vorneherein wahrscheinlich, dass für den Grad der Beschränkung, welche die Fäulniss durch den Zusatz von Milch erfährt, die Menge der Milch massgebend sei. Der Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme liess sich leicht erbringen.

Versuch. Ein Extract aus 100 gr. Fleisch, mit Wasser auf 750 cbcm. aufgefüllt, wird unter Zusatz von 250 cbcm. Milch und 40 gr. $CaCO_3$ fünf Tage auf dem Wasserbade belassen. Die nach Ablauf dieser Zeit vorgenommene Untersuchung ergibt starke Indolreaction (mit Salpetersäure, welche salpetrige Säure enthält, schöne Rothfärbung, salpetersaures Nitrosoindol fällt in geringer Menge nach längerem Stehen aus), schwache Skatolreaction und Spuren von Phenol.

Versuch. Extract aus 100 gr. Fleisch, mit Wasser auf 850 cbcm. aufgefüllt, wird unter Zusatz von 40 gr. $CaCO_3$ und 150 cbcm. Milch vier Tage auf dem Wasserbade belassen. Die hierauf vorgenommene Untersuchung ergibt die Anwesenheit von Indol.

Während also in den früher mitgetheilten Versuchen unter sonst gleichen Verhältnissen bei einem Zusatz von 500 cbcm. Milch die Bildung von Indol, Skatol und Phenol in der angegebenen Zeit vollständig verhindert worden war, konnte ein Zusatz von 250 beziehungsweise 150 cbcm. Milch die Bildung dieser Körper nicht verhindern.

In ähnlicher Weise, wenn auch nicht mit derselben Entschiedenheit, ist für das Zustandekommen der letzten Eiweissspaltungsproducte die Menge des zugesetzten Eiweissmaterials — bei gleicher Milchquantität — massgebend.

Milch für sich allein, durch $CaCO_3$ neutralisirt, aber ohne Zusatz eines fäulnissfähigen Materials, leistet der Fäulniss jedenfalls den energischsten Widerstand. Leucin und Tyrosin liessen sich erst am fünften Tage nachweisen, Hydroparacumarsäure erst nach siebentägiger Einwirkung einer Temperatur von 30 Graden. Dagegen konnte ich Indol, Skatol oder Phenol selbst bei zwanzigtägiger Versuchsdauer nicht auffinden. Dies ist um so auffallender, da gleichzeitig Wasser-

stoff in statu nascendi reichlich vorhanden war, wofür die Anwesenheit von Hydroparacumarsäure und Schwefelwasserstoff sprach; der Geruch, den diese Milchportion verbreitete, war dabei äusserst intensiv und unangenehm. —

Die mitgetheilten Versuche gestatten einen genügenden Einblick in die Art und Weise, wie die Milch auf die Fäulnissvorgänge ausserhalb des Organismus, namentlich auf die faulige Zersetzung der Eiweisskörper, einwirkt. Diese Wirkung lässt sich, wie ich glaube, am besten als eine in hohem Masse fäulnissverzögernde charakterisiren. Der Bildung der ersten und der letzten Spaltungsproducte der Eiweisskörper wird der grösste Widerstand geleistet, und selbst bei Anwesenheit von Wasserstoff in statu nascendi kommt es noch lange nicht zur Bildung von Indol, Skatol und Phenol. Da wir über den Chemismus der Indolbildung so gut wie nichts wissen und namentlich die Zwischenproducte, welche zur Bildung von Indol führen, nicht kennen, so wäre es müssig, über die Ursache dieser Erscheinung Vermuthungen anzustellen.

Die nächste Frage, welche mich naturgemäss beschäftigen musste, war die, welcher Bestandtheil der Milch für die fäulnisshemmende Wirkung derselben massgebend sei. Die Beantwortung dieser Frage war mir durch die Untersuchungen, welche Hirschler in Hoppe-Seyler's Laboratorium ausgeführt hat, sehr leicht gemacht. Aus diesen Untersuchungen ging hervor, dass die Kohlehydrate, namentlich Rohrzucker, auf Fäulnissvorgänge einen entschieden hemmenden Einfluss ausüben. Da nicht einzusehen ist, weshalb Milchzucker sich wesentlich anders verhalten sollte als Rohrzucker, so lag die Vermuthung nahe, dass die Kohlehydrate der Milch, d. i. der Milchzucker, die Hauptrolle bei der fäulnissverzögernden Wirkung spielen. Zur Entscheidung dieser Frage wurde folgender Weg eingeschlagen: Vier Liter Milch werden zur Abscheidung des Rahmes in zwei Scheidetrichtern einen Tag in der Kälte stehen gelassen. Die vom Rahm befreite Milch wird mit Labflüssigkeit (wässeriger Extract der Schleimhaut eines Schweinemagens) bis zur grobflockigen Fällung des Caseins versetzt. Nach dem Absetzen des Caseins wird durch

Leinwand colirt, das Casein wiederholt mit Wasser gewaschen, so dass es nur mehr geringe Mengen Milchzucker enthält. Schliesslich wird das Casein gut ausgepresst, gewogen und in drei gleiche Portionen getheilt. Das Gewicht der ganzen Caseinmenge betrug 548 gr. Dieses Casein diente zur Herstellung folgender drei Versuchsflüssigkeiten:

I. 182 gr. Casein, 500 cbcm. Wasser, 20 gr. $CaCO_3$.
II. 182 gr. Casein, Extract aus 100 gr. Fleisch mit Wasser auf 500 cbcm. aufgefüllt, 20 gr. $CaCO_3$.
III. 182 gr. Casein, Extract aus 100 gr. Pankreas mit Wasser auf 500 cbcm. aufgefüllt, 20 gr. $CaCO_3$.

Diese drei Portionen wurden untersucht, nachdem sie fünf Tage bei einer Temperatur von 30 Graden auf dem Wasserbade gehalten worden waren. Das Ergebniss der gleichzeitig vorgenommenen Untersuchung ist aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle III.

	I. Casein.	II. Casein + Fleisch.	III. Casein + Pankreas.
Bromkörper	starke Reaction	deutl. Reaction	starke Reaction
Hydroparacumarsäure .	intensive Reaction	deutl. Reaction	deutl. Reaction
Indol	starke Reaction	schwache Reaction	schwache Reaction
Skatol	schwache Reaction	Spuren	nicht vorhanden
Phenol.	deutl. Reaction (Durch Farbenreaction mit Millon's Reagens, als auch durch Fällung mit Bromwasser nachweisbar)	schwache Reaction	fehlt

Wiewohl aus den bezüglichen Untersuchungen von Hirschler hervorgeht, dass die Gegenwart von Fett die Fäulniss der Eiweisssubstanzen in keiner Weise behindert, so habe ich doch, um auch nach dieser Richtung sicher zu gehen, bei einer Wiederholung dieses Versuches die Milch ohne vor-

herige Abscheidung des Fettes mit Labflüssigkeit gefällt und das so erhaltene Casein zur Anstellung des Versuches verwendet. Die Menge des Caseins betrug in diesem Falle 586 gr., die Menge einer Portion 195 gr. Die Untersuchung wurde schon nach Ablauf von vier Tagen vorgenommen. Das Ergebniss war dem bei fünftägiger Versuchsdauer vollständig analog.

Auch hier war in allen Portionen Indol nachweisbar und auch hier fiel die Reaction am intensivsten bei der Caseinportion aus, die am wenigsten Eiweissmaterial enthielt. Während dagegen beim vorigen Versuche die Fleischportion kein Phenol enthielt, war Phenol diesmal in allen Portionen nachweisbar.

Dieser Versuch wurde noch einmal mit demselben Resultat wiederholt, so dass das Ergebniss als zuverlässig anzusehen ist. Eine Wiederholung des Versuches für eine nur dreitägige Versuchsdauer ergab im Wesentlichen dasselbe Resultat.

Aus diesen Versuchen geht unbedingt hervor, dass sich das Casein der Fäulniss gegenüber nicht anders verhält als andere Eiweisssubstanzen. Das Fett nimmt aber auf die Eiweissfäulniss keinen Einfluss und da andere Substanzen in der Milch hierfür nicht in Betracht kommen, so bleibt nichts Anderes übrig, als den Milchzucker, der in reichlicher Menge vorhanden ist, für die fäulnisshemmende Wirkung verantwortlich zu machen. Ob nun, wie Hirschler meint, die rasche Spaltung, welche die Kohlehydrate erfahren, die Bacterien vollauf in Anspruch nimmt, so dass das Eiweiss zunächst keine tiefgehende Zersetzung erfährt, oder ob die Bacterien, welche die Kohlehydrate spalten, die Eiweissbacterien direct schädlich beeinflussen, lässt sich wohl kaum entscheiden, ehe die Versuche nicht nach der bacteriologischen Seite eine Ergänzung erfahren.

Anhang.

Ueber Eiweissspaltungsproducte im Käse.

Da das Casein bei seiner Fäulniss alle Spaltungsproducte der Eiweisssubstanzen in so reichem Masse liefert, so lag die

Vermuthung nahe, dass auch in manchen Käsesorten die letzten Spaltungsproducte der Eiweisssubstanzen sich würden nachweisen lassen und dies um so mehr, als der Käse seiner Hauptmasse nach aus Casein besteht und bei seiner Reifung einem oft sehr eingreifenden Fäulnissprocess unterworfen wird. Es lag nahe, einige Käsesorten auf die Anwesenheit von Hydroparacumarsäure, Indol, Skatol und Phenol zu untersuchen. Diese Untersuchungen machen auf Vollständigkeit keinerlei Anspruch und mögen nur als ein Beitrag dienen zur Kenntniss jener Spaltungsproducte, über deren Vorkommen in Käse bisher nichts bekannt war.

Untersucht wurden in dieser Richtung Emmenthaler Käse, Münsterkäse[1]) und Mainzer Handkäse[2]). Der Käse wurde zerkleinert, mit Wasser in der Reibschale verrieben und eine Stunde lang unter Zusatz von 200—300 cbcm. Wasser auf 100 gr. Käse extrahirt, dann durch Leinwand colirt und die so erhaltene milchig trübe, fettige Flüssigkeit der Destillation im strömenden Dampfe unterworfen. Die weitere Untersuchung unterschied sich in nichts von der für die Untersuchung der betreffenden Substanzen üblichen Methode. Das erste Destillat, ungefähr 200 cbcm., wurde mit NaOH zur Bindung des Phenols versetzt und abermals destillirt und zwar so lange, bis die überdestillirende Flüssigkeit keine Indolreaction mehr ergab. Dies ist nöthig, weil sonst bei der neuerlichen Destillation, nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure, etwa mit übergehendes Indol die Anwesenheit von Phenol vortäuschen könnte. Das Ergebniss der Untersuchung ist aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich.

---

[1]) Der Münsterkäse ist nach Fleischmann (Das Molkereiwesen, Braunschweig, Vieweg u. Sohn) ein aus Kuhmilch mittels Lab bereiteter Weichkäse, welcher vor dem Consum einen Reifungsprocess durchzumachen hat.

[2]) Mainzer Handkäschen sind Sauermilchkäse, welche einen mehrmonatlichen Reifungsprocess durchzumachen haben. Sie kommen den in Oesterreich unter dem Namen «Olmützer Quargel» bekannten Käschen nach Bereitungsweise und äusserer Form am nächsten.

Tabelle IV.

	Emmenthaler Käse.	Münsterkäse.	Mainzer Handkäse.
Hxdroparacumarsäure	vorhanden mit Millon's Reagens gekocht deutl. Rothfärbg.	vorhanden mit Millon's Reagens intensive Rothfärbung	desgleichen
Indol.	fehlt	im zweit. Destillat deutliche Indolreaction	starke Indolreaction, reichlicher Niederschlag von salpetersaurem Nitrosoindol
Skatol	fehlt	fehlt?	Skatolreaction zweifelhaft
Phenol	fehlt	fehlt	in Spuren nachweisbar

Der Versuch, aus dem Indol des Mainzer Handkäses das Pikrinat darzustellen, gelang nicht, offenbar weil die in 100 gr. des Käses enthaltene Menge hierfür zu gering ist. Dass sich neben den genannten Spaltungsproducten auch stets Leucin und Tyrosin nachweisen liess, ist nichts Neues und bedarf daher keiner Bestätigung. Die Entwickelung der letzten Eiweissspaltungsproducte im Käse hängt hauptsächlich ab von der Art und der Dauer des Reifungsprocesses, dem die Käsesorten unterworfen werden. Ausserdem dürften dabei noch der grössere oder geringere Gehalt an Milchzucker und Wasser in Betracht kommen. Beachtenswerth ist, dass sich im Emmenthaler Käse (und, wie wohl angenommen werden darf, in allen nach Emmenthaler Art bereiteten Hartkäsen) Oxysäuren finden, während Indol, Skatol und Phenol fehlen. Dies stimmt mit den Erfahrungen, welche für die Fäulniss bei Gegenwart von Milch gemacht wurden, überein. Auch hier kommt es zur Bildung der Oxysäuren um Vieles früher als zur Entwickelung von Indol.

II. Einfluss der Milch auf die Fäulnissvorgänge im Darmkanal.

Es bedarf keiner ausführlichen Begründung, dass die durch den Versuch ausserhalb des Organismus gewonnenen Resultate nicht ohne Weiteres auf die Verhältnisse im Organis-

mus beziehungsweise im Darmkanal übertragen werden können. Da aber gerade diese Seite der Frage ein hervorragendes Interesse beansprucht, so musste ihrer Untersuchung besondere Aufmerksamkeit zugewendet werden. Die Fäulniss im Darm führt zwar zu denselben Endproducten wie ausserhalb desselben, aber der Ablauf der Fäulnissvorgänge im Darm wird durch verschiedene Umstände, namentlich durch die Verhältnisse der Resorption, beeinflusst. Um nun den Einfluss der Milch auf die Darmfäulniss kennen zu lernen, wurden die betreffenden Verhältnisse einerseits bei ausschliesslicher Milchnahrung, andererseits bei einer mit Fleisch combinirten Milchnahrung untersucht. Es ist seit den Untersuchungen von Baumann üblich geworden, den Grad der Darmfäulniss zu beurtheilen nach der Grösse des Verhältnisses der im Harn ausgeschiedenen Sulphat- und Aetherschwefelsäuren. Um den Umfang der Darmfäulniss richtig ermessen zu können, schien es indess geboten, auch die Untersuchung der Fäces vorzunehmen, da nicht alle im Dickdarm entstandenen Fäulnissproducte zur Resorption gelangen.

A. Reine Milchdiät.

Der praktischen Durchführung der Versuche bei ausschliesslicher Milchnahrung stellten sich Anfangs erhebliche Schwierigkeiten in den Weg, da ausgewachsene Hunde die Milchnahrung sehr schlecht zu vertragen scheinen. Der zuerst verwendete Hund bekam Durchfälle, die auch durch die Beigabe von Calciumcarbonat zur Milch nicht gestillt wurden. Abgesehen von den dadurch geschaffenen abnormalen Verhältnissen, war auch die getrennte Aufsammlung von Harn und Fäces unmöglich gemacht, und ich musste sonach von der Verwendung dieses Hundes Abstand nehmen. Auch der zweite Hund schien die Milch Anfangs nicht gut zu vertragen, es bestand geringe Diarrhoe und die Durchführung des Versuches wurde nur dadurch ermöglicht, dass der Hund gut gezogen war und seine Fäces jeden Morgen in eine untergehaltene Schale entleerte. In den letzten vier Versuchstagen hatten die Fäces normale Consistenz. Eigentlich Durchfälle

bestanden auch Anfangs nicht, da der Hund den Kasten nicht verunreinigte und die Fäces auch bei flüssiger Beschaffenheit keine unzersetzten Gallenfarbstoffe enthielten.

Vor Beginn des Versuches bekam der Hund zwei Tage keine Nahrung. Von da ab erhielt er täglich einundeinhalb Liter Milch in drei Portionen (mit Zusatz von 10 gr. $CaCO_3$ pro die). Sein Gewicht betrug 10300 gr.

Untersuchung des Urins.

Aus der nachfolgenden Tabelle ergibt sich das Verhalten der Schwefelsäuren des Harnes während der 10tägigen Versuchsdauer.

Tabelle V.

Datum.	Urinmenge.	A. $BaSO_4$ entsprech. der Sulphatschwefelsäure in 100 cbcm. Urin.	B. $BaSO_4$ entsprech. der Aetherschwefelsäure in 100 cbcm. Urin.	Verhältniss $\frac{A}{B}$	Bemerkungen über das Verhalten der Fäces.
December					
27./28.	500	0,2879	0,0269	11,7	
28./29.	800	0,2290	0,0268	8,6	Es besteht geringe Diarrhoe.
30./31.	?	0,1353	0,0387	3,5	
Jänner					
1./2.	500?	0,1075	0,0274	3,9	
2./3.	?	0,1920	0,0328	5,9	
3./4.	450	0,2279	0,0192	11,8	Normale Consistenz.
4./5.	600	0,2227	0,0131	17,0	Keine Fäces.
5./6.	550	0.1935	0,0136	14,2	Normale Consistenz.
6./7.	500	0,3064	0,0278	11	Keine Fäces.

Ohne vorderhand auf eine Deutung der hier gegebenen Zahlen einzugehen, sei nur bemerkt, dass als normal nur die vier letzten Versuchstage vom 4. bis zum 7. Jänner bezeichnet werden können. Während dieser vier Tage erfolgte zweimal normale Kothentleerung. Die vorangegangenen Tage erfolgte täglich einmal die Entleerung dünnbreiiger oder flüssiger Massen.

Morax gibt an, dass durch gelinde Laxantien die Darmfäulniss vermehrt wird. Diese Angabe findet auch durch die hier mitgetheilten Zahlen für die Zeit vom 28. December bis zum 3. Jänner ihre Bestätigung. Bekanntlich nimmt die Fäul-

niss im Dickdarm in dem Masse ab, als den Inhaltsmassen durch Resorption Wasser entzogen wird. Ist diese Resorption behindert, so muss, abgesehen von anderen Umständen, die hier mitspielen, die Darmfäulniss zunehmen.

Für die letzten vier Versuchstage berechnet sich das Verhältniss der Sulphatschwefelsäuren zu den Aetherschwefelsäuren im Mittel auf 10,8. Um diese Zahl in exacter Weise zu einem Vergleich heranziehen zu können, schien es unbedingt geboten, die Grösse dieses Verhältnisses bei mässiger Fleischkost und zwar bei demselben Hunde zu ermitteln, da bei verschiedenen Individuen diese Zahlen innerhalb breiter Grenzen schwanken. Der Hund erhielt demnach vom 9. ab täglich 1 Pfund Fleisch. Am 12. und die folgenden Tage wurden Urin und Fäces untersucht. Das Verhältniss der präformirten Schwefelsäuren zu den Aetherschwefelsäuren stellt sich während dieser Zeit wie folgt:

Tabelle VI.

Datum.	Urinmenge.	A. $BaSO_4$ entsprechend der Sulphatschwefelsäure in 100 cbcm.	B. $BaSO_4$ entsprechend der Aetherschwefelsäure in 100 cbcm.	$\frac{A}{B}$
11./12.	320	1,0497	0,1175	9,7
12./13.	330	1,0888	0,1091	9,9
13./14.	330	1,0228	0,1076	9,5
14./15.	360	0,9493	0,1017	9,3
			Im Mittel:	9,6

Vergleicht man die sich hieraus ergebende Mittelzahl von 9,6 mit der früher gefundenen von 10,8, so ergibt sich eine sehr geringe Differenz zu Gunsten der Milchdiät. Es ist indess schon von verschiedenen Seiten darauf hingewiesen worden, dass die Vergleichung des Verhältnisses der Sulphatschwefelsäuren zu den Aetherschwefelsäuren nur bedingt zulässig ist, und dass vielmehr bei verschiedener Nahrung die absoluten Mengen der Aetherschwefelsäuren einen richtigen Massstab für einen Vergleich bieten. Stellt man aus den vorstehenden Tabellen die absoluten Mengen der Aetherschwefelsäuren bei Milchdiät für die Zeit vom 3. bis 7. Jänner und

bei Fleischdiät für die Zeit vom 11. bis 15. Jänner einander gegenüber, so ergibt sich Folgendes:

Tabelle VII.

Milchdiät. Absolute Menge des $BaSO_4$ entsprechend den Aetherschwefelsäuren pro die vom 3. bis 7. Jänner.	Fleischdiät. Absolute Menge des $BaSO_4$ entsprechend den Aetherschwefelsäuren pro die vom 11. bis 15. Jänner.	Verhältniss der absoluten Aetherschwefelsäure-Mengen bei Milch- u. Fleischnahrung.
0,0864	0,344	1 : 3,7
0,0786	0,360	1 : 4,5
0,0748	0,355	1 : 4,7
0,1360	0,366	1 : 2,6
Mittel: 0,0939	0,356	1 : 3,7

Es wurden sonach bei der Fleischnahrung im Mittel pro die 3,7mal so viel Aetherschwefelsäuren ausgeschieden als bei der Milchnahrung.

Bezüglich der sonstigen Ergebnisse der Urinuntersuchung bei der Milchdiät und bei der Fleischdiät wäre noch Folgendes nachzutragen: Das specifische Gewicht des Urins schwankte bei der Milchnahrung zwischen 1,014 und 1,008, bei der Fleischfütterung zwischen 1,050 und 1,040.

Auf Indoxyl wurde der Harn täglich untersucht, der Gehalt daran schwankte innerhalb erheblicher Grenzen, bisweilen war die Reaction recht intensiv. Einen erheblichen Unterschied, etwa zu Gunsten der Milchnahrung, konnte ich nicht beobachten. Auf Phenol wurde der Harn des Hundes während der Milchdiät dreimal untersucht. Zum Nachweis desselben wurden 400 cbcm. Harn mit 50 cbcm. rauchender Salzsäure versetzt, ein Drittel überdestillirt, mit Na_2CO_3 übersättigt und abermals der Destillation unterworfen. In diesem Destillat war Phenol nie, weder mit Millon's Reagens, noch mit Bromwasser nachweisbar. Der Rückstand nach der ersten Destillation wurde zum Nachweis der Hydroparacumarsäure verwendet. Er wurde zu diesem Zweck eingedampft und mit Aether extrahirt. Im ätherischen Extract wurde nach Verjagung des Aethers auf Hydroparacumarsäure geprüft. Mit Millon's Reagens gekocht ergab die Probe deutliche Roth-

färbung. Eine analoge Prüfung bei Fleischfütterung, mit 450 cbcm. Harn vorgenommen, ergab die Anwesenheit einer Spur Phenol (mit Millon's Reagens gekocht geringe Rosafärbung) und sehr intensive Hydroparacumarsäure-Reaction.

Untersuchung der Fäces.

Die Fäces verbreiteten bei der Entleerung einen intensiven, nicht eigentlich fäcalen Geruch, der wohl auf flüchtige Fettsäuren zu beziehen ist. Nach kurzem Stehen an der Luft waren sie so gut wie geruchlos. In ihrem Aussehen erinnerten sie durch Farbe und Consistenz an frischen Lehm. Das Gewicht schwankte im frischen Zustande zwischen 40 und 100 gr. Die Reaction war nur während der ersten Versuchstage sauer, späterhin neutral, was jedenfalls durch das der Milch beigegebene Calciumcarbonat bewirkt wurde. Die Untersuchung der Fäces geschah nach den bekannten Vorschriften[1]). Bei der Destillation auf freiem Feuer schäumten dieselben indess so stark und anhaltend, dass die Destillation im strömenden Dampf vorgenommen werden musste. Die Bildung des Schaumes — der sich durch ein lebhaftes Farbenspiel auszeichnete — ist vermuthlich auf die reichliche Anwesenheit von Seifen zu beziehen.

Die Prüfung auf Fäulnissproducte, die Anfangs sofort in jeder Portion einzeln vorgenommen wurde, ergab für Indol geringe Rosafärbung mit Salpetersäure, die salpetrige Säure enthielt. Die Reaction mit einem mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn gelang nicht. Die Indolreaction wurde in den einzelnen Fäcesportionen zusehends schwächer, bis schliesslich jede Indolreaction ausblieb, ebenso verhielt es sich mit Skatol. Phenol konnte nur einmal in den Fäces vom 30. December in Spuren nachgewiesen werden. Die Fäcesportionen vom 3. bis 5. Jänner wurden vereinigt (beziehungsweise die ersten Destillate) und gemeinsam untersucht. Indol, Skatol und Phenol fehlten gänzlich, Hydroparacumarsäure liess sich in geringer Menge nachweisen (mit Millon's Reagens gekocht, rothgelbe Färbung, geringe Trübung).

---

[1]) Hoppe-Seyler, «Handbuch der phys.- u. pathol.-chemischen Analyse», 5. Aufl., S. 506.

Eiweissstoffe u. zw. Peptone konnten in den Fäces nicht constant nachgewiesen werden. Meist erhielt ich indess im filtrirten Rückstand der ersten Destillation, mit Natronlauge und Kupfersulfat in der Kälte geprüft, schwache Peptonreaction, mit Millon's Reagens gekocht geringe Rothfärbung, die aber zum Theil sicherlich auf die Anwesenheit von Hydroparacumarsäure zu beziehen ist. Im diarrhoischen Stuhlgang waren auch geringe Mengen coagulabler Eiweissstoffe nachweisbar.

Die vereinigten Fäcesportionen benutzte ich zum Nachweis von Leucin und Tyrosin. Aus dem eingedampften Rückstand liess sich eine geringe Menge von Leucin und Tyrosin darstellen, dessen Nachweis mikroskopisch erbracht wurde. Zucker war in den Fäces nicht vorhanden, wie denn überhaupt keine reducirende Substanz auffindbar war. Wegscheider[1]), der sich mit der Untersuchung der Säuglingsfäces eingehend beschäftigt hat, gibt an, dass der wässerige Extract dieser Fäces, mit Natronlauge und Kupfersulfat versetzt, in der Kälte schwach röthlich-violette Färbung gab. «Beim Erhitzen wurde die Färbung aber nicht stärker, sondern die Lösung in eine weingelbe Flüssigkeit verwandelt, in der ein rother flockiger Niederschlag suspendirt war. Letztere Reaction war also jedenfalls von einem reducirenden Körper abhängig.» Bei den von mir untersuchten Hundefäces habe ich eine derartige reducirende Substanz nicht nachweisen können. Die in der Kälte aufgetretene Biuretfärbung nahm beim Kochen an Intensität zu, ohne dass Reduction des Kupfers eintrat. Auch die Prüfung mit salzsaurem Phenylhydrazin ergab das Fehlen von Zuckersubstanz in den Fäces.

Wenn in den Fäces bei ausschliesslicher Milchnahrung Indol, Skatol und Phenol nicht nachweisbar sind, so liegt dies natürlich nicht daran, dass etwa das Material zur Bildung dieser Producte fehlt; dieses Material ist auch im Dickdarm noch reichlich vorhanden, wie der nachfolgende Versuch beweist, aber die betreffenden Producte werden in so geringer

---

[1]) Wegscheider, «Ueber die normale Verdauung bei Säuglingen», In.-Diss., Berlin, S. 11 u. 12.

Menge gebildet, dass sie vollständig zur Resorption gelangen. Allerdings scheint es, dass Phenol bei Milchnahrung überhaupt nicht entsteht, da es, wie mitgetheilt, im Harn und in den Fäces nie nachweisbar war. Den Hauptantheil an den im Harn ausgeschiedenen Aetherschwefelsäuren nehmen Indol und Oxysäuren.

Dass es durch künstlich protrahirte Fäulniss in den Milchfäces zur Bildung von Indol, Skatol und Phenol kommt, liess sich, wie gesagt, durch den Versuch leicht feststellen.

Die Fäces vom 6./I. (dickbreiig, dunkelgelb, neutrale Reaction, 142 gr.) wurden in zwei Theile getheilt. Der eine Theil, sofort auf Indol, Skatol und Phenol untersucht, ergab das vollständige Fehlen der genannten Producte. Hydroparacumarsäure war deutlich nachweisbar (mit Millon's Reagens gekocht intensive Gelbfärbung). Der andere Theil wurde mit 600 cbcm. destillirten Wassers verrieben, in eine Flasche gebracht, welche durch Ausspülen mit siedendem Wasser sterilisirt war, die Flasche mit sterilisirtem Wattepfropf verschlossen und auf ein Wasserbad von ca. 25° gesetzt. Das Ergebniss der am 11./I. vorgenommenen Untersuchung im Vergleich zu der am 6./I. vorgenommenen ist aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle VIII.

	Fäces frisch untersucht.	Fäces nach 5tägiger Fäulniss untersucht.
Bromkörper	nicht vorhanden	nicht vorhanden
Indol	fehlt	deutliche, nicht besonders starke Reaction
Skatol	fehlt	schwache Reaction
Phenol.	fehlt	intensive Dunkelrothfärbung mit Millon's Reag., mit Bromwasser starke Fällung

Der Bromkörper, welcher auch in den frischen Fäces nicht nachweisbar war, worauf ich später zurückkommen werde, konnte bei dem Mangel an Eiweissmaterial auch nach

und Spuren von Phenol. Die Fäces waren fest, dunkel gefärbt, der Geruch fäcal. Es waren also, wie die vorgenommene Untersuchung ergibt, nicht alle im Dickdarm gebildeten Fäulnissproducte zur Resorption gelangt. Man ersieht daraus, dass die Untersuchung der Fäces den Einblick, welchen die Bestimmung der Schwefelsäuren über den Umfang der stattgehabten Darmfäulniss gewährt, wesentlich ergänzt.

Am 2./II. wurde der Hund um 3 Uhr Nachmittags durch Blutentziehung getödtet. Die letzte Nahrung — $^1/_2$ Pfund Fleisch und $^1/_2$ Liter Milch — erhielt er fünf Stunden vorher. Der Darm wurde unterbunden: vom Pylorus bis zur Einmündung des ductus pancreaticus (I), von da bis zum Abgang des Jejunum (II), der Dünndarm in zwei Abschnitten (III und IV) und endlich (V) der Dickdarm. Der Darm war in allen Abschnitten mit breiigem Inhalt gefüllt, am meisten in den letzten Abschnitten. Die Reaction war in allen Theilen sauer, Pepton war in allen Abschnitten nachweisbar.

Tabelle XI.

	I.	II.	III.	IV.	V.
Bromkörper	fehlt	vorhand.	vorhand.	vorhand.	fehlt
Reducirende Substanz	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt
Indol und Skatol . .	—	—	—	—	geringe Menge
Phenol.	—	—	—	—	fehlt
Oxysäuren	—	—	—	vorhand.	vorhand.

Eine Erklärung dieser Tabelle ist überflüssig. Nur bezüglich des Bromkörpers habe ich Folgendes zu bemerken: Derselbe ist im Darme erst nach Eintritt des ductus pancr. nachweisbar. Dies entspricht der bekannten Thatsache, dass er bei Ausschluss von Fäulniss nur durch die Fermentwirkung des Pankreassaftes zu Stande kommt, wenigstens bei der hier in Betracht kommenden Zeitdauer. Dass er bei längerer Dauer auch durch die Wirkung des Magensaftes entsteht, habe ich früher schon erwähnt. Im Dickdarm liess sich dieser Körper nur bei reiner Milchnahrung nachweisen, im vorliegenden Falle

fehlte er bereits im Dickdarm. In den Fäces habe ich ihn nie auffinden können. Der Nachweis wurde im filtrirten Rückstand der ersten Destillation — vor oder nach dem Eindampfen — geführt. Die hierzu zur Verwendung kommende Flüssigkeit ist (bei den Fäces) stets dunkel gefärbt. Dies hindert indess — wie ich ausdrücklich betonen muss — den Eintritt der Reaction in keiner Weise. Im vorliegenden Fall war die für den Nachweis verwendete Flüssigkeit aus dem Abschnitt IV intensiv dunkelbraun; bei Zusatz von Bromwasser trat deutlich violetter Niederschlag ein. Die Flüssigkeit aus dem Abschnitt V, weniger intensiv gefärbt, gab die Reaction nicht.

Der Umstand nun, dass dieses Eiweissspaltungsproduct stets im Dünndarm, eventuell auch im Anfangstheil des Dickdarms, dagegen nie in den Fäces vorhanden ist, lässt zwei Möglichkeiten zu. Entweder wird dieser Körper im Dickdarm bei fortschreitender Fäulniss zerstört, oder aber er wird schon im Anfangstheil des Dickdarms resorbirt.

Nach meinen Erfahrungen muss ich mich für die zweite Annahme entscheiden, da ich diesen Körper wiederholt bei intensiver Fäulniss und reichlicher Anwesenheit von Indol, Skatol und Phenol nachweisen konnte. Weshalb er nun im Dickdarm, wo die Fäulniss nur unter abnormalen Verhältnissen einen besonders hohen Grad erreicht, zerstört werden sollte, ist nicht recht einzusehen. Dagegen ist er schwerer resorbirbar als Leucin und Tyrosin, denn während der Bromkörper im Duodenum und Dünndarm stets leicht nachweisbar ist, entziehen sich Leucin und Tyrosin dem Nachweis durch ihre rasche Resorption.

Im Anschluss an die hier mitgetheilten Versuche habe ich noch kurz über die Untersuchung von Säuglingsfäces zu berichten, welche ich mehrmals vorzunehmen Gelegenheit hatte. In Uebereinstimmung mit den Angaben Senator's[1]) konnte ich in den Fäces der Säuglinge nie Indol, Skatol oder

[1]) Senator, «Ueber das Vorkommen von Producten der Darmfäulniss bei Neugeborenen», diese Zeitschrift, Bd. IV.

Phenol nachweisen. Einmal fand sich allerdings eine Spur Indol, was indess sicherlich auf eine ausserhalb des Darmes stattgefundene Zersetzung zurückzuführen ist. Dagegen liessen sich stets, worüber Senator keine Angaben macht, Oxysäuren in grösserer oder geringerer Menge nachweisen. Dies steht im Einklang sowohl mit den Resultaten der Milchfäulniss ausserhalb des Organismus, als auch mit den durch die Untersuchung der Hundefäces bei Milchnahrung gewonnenen Resultaten. Wenn Senator das Fehlen der genannten Fäulnissproducte in den Säuglingsfäces lediglich dem schnelleren Durchgang des Darminhaltes bei Säuglingen zuschreibt, so geht aus den mitgetheilten Versuchen hervor, dass für die Erklärung dieser Verhältnisse wesentlich andere Factoren in Betracht gezogen werden müssen.

Während ich mit den vorliegenden Untersuchungen beschäftigt war, erschien eine Arbeit von Biernacki[1]), in welcher die Resultate der Schwefelsäurebestimmungen im Harn des Menschen bei verschiedener Diät mitgetheilt werden. Auf Grund dieser Bestimmungen kommt Biernacki zu dem Schlusse, dass bei der Milchnahrung die Darmfäulniss besonders gering sei. Massgebend hierfür ist nach seiner Ansicht die leichte Assimilation des in der Milch enthaltenen Eiweisses. Auch diese Erklärung muss somit als nicht ausreichend bezeichnet werden.

Fasse ich nochmals in Kürze das Resultat der mitgetheilten Untersuchungen zusammen, so ergibt sich Folgendes:

1. Die Milch wirkt auf die Eiweissfäulniss hemmend ein und verzögert namentlich die Entstehung der ersten und der letzten Eiweissspaltungsproducte. Dieser Einfluss beruht auf der Gegenwart des Milchzuckers und macht sich unabhängig von der durch die Spaltung des Milchzuckers bedingten Säurewirkung geltend.

2. In derselben Weise und in demselben Umfange beeinflusst die Milch auch die Darmfäulniss und bewirkt einer-

---

[1]) Biernacki, «Ueber die Darmfäulniss bei Nierenentzündung und Ikterus, nebst Bemerkungen über die normale Darmfäulniss», Deutsches Archiv f. klin. Medizin, Bd. IL, 1. Heft.

seits eine entschiedene Verminderung der Aetherschwefelsäuren im Harne, andererseits das Fehlen beziehungsweise die Verminderung der letzten Eiweissspaltungsproducte in den Fäces, vermindert also dadurch den Zerfall der Eiweisssubstanzen in Producte, welche für den Organismus werthlos, möglicherweise sogar schädlich sind.

3. Der sogenannte Bromkörper ist im Darm vom Eintritt des ductus pancreaticus nachweisbar. Er entsteht in den oberen Darmabschnitten durch die Fermentwirkung des Pankreassaftes, in den unteren Darmabschnitten möglicherweise auch durch Fäulniss. Im unteren Abschnitt des Dickdarms und in den Fäces ist er nicht enthalten; er wird vom Darm aus vollständig resorbirt und verhält sich auch hierin nicht wesentlich anders als Leucin und Tyrosin, mit denen er gleichzeitig entsteht.

Zum Schlusse nehme ich die Gelegenheit wahr, dem Gefühle aufrichtiger Dankbarkeit gegen meinen hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Hoppe-Seyler, Ausdruck zu verleihen, der mir die Anregung zu meinen Arbeiten gegeben und mich bei Ausführung derselben unermüdlich unterstützt hat.

Ueber die Cholalsäure und einige Derivate derselben.

Von

Lassar-Cohn.

(Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie und Pharmakologie zu Königsberg.)

(Der Redaction zugegangen am 3. März 1892.)

Säuert man Gallen irgend welcher Herkunft an, so fällt ein grosser Theil der Gallenbestandtheile aus, aber in Form eines so wenig zur Untersuchung einladenden Harzes, dass man bis zu der ausgezeichneten Arbeit Strecker's, die die Isolirung krystallisirter Säuren aus der Galle lehrte, als einen der Bestandtheile derselben das sogenannte Gallenharz, welches für ein unentwirrbares Gemisch verschiedenartiger Substanzen galt, anführte.

Am meisten untersucht von den aus ihr dargestellten Säuren ist die Cholalsäure, welcher Strecker die Formel $C_{24}H_{40}O_5$ gegeben hat. So Vieles und Treffliches auch über dieselbe gearbeitet ist, so befinden sich nicht nur die Kenntnisse hinsichtlich ihrer chemischen Constitution noch in den Anfangsstadien, sondern sogar ihre Summenformel ist bis in die neueste Zeit umstritten worden.

Im Folgenden möchte Verfasser die Ergebnisse der auch von ihm unternommenen Untersuchung der Cholalsäure mittheilen, aus der wenigstens mit einer jetzt wohl nicht mehr anzuzweifelnden Sicherheit folgt, dass ihre Summenformel $C_{24}H_{40}O_5$ und nicht etwa, wie Latschinoff in seiner vor fünf Jahren veröffentlichten Arbeit[1]) wiederum behauptet hat, $C_{25}H_{42}O_5$ ist.

[1]) Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 20, S. 1050.

Die Säure wurde nach dem sehr bequemen Verfahren von Mylius dargestellt. Dies beruht bekanntlich darauf, dass durch Kochen mit Natriumhydroxyd die in der Galle als Paarlinge vorkommenden Säuren in ihre Componenten zerlegt und die in Form ihrer Natriumsalze jetzt vorhandenen Gallensäuren nach dem Einleiten von Kohlensäure und Eindampfen zur Trockne mittelst Alkohol von den in diesem nicht löslichen sonstigen Gallenbestandtheilen getrennt werden. Durch Zugabe von Chlorbarium fällt man alsdann aus dem mit Wasser auf das Vierfache verdünnten alkoholischen Extract fremde Säuren als Bariumsalze aus. Alsdann befindet sich in der Flüssigkeit fast reines cholalsaures Barium, wie die weiterhin mitzutheilenden Resultate ergeben.

Nachdem im Laufe der Zeit etwa 100 Liter Rindergalle nach diesem Verfahren verarbeitet wurden, sind ziemliche Mengen der unlöslichen Bariumsalze der fremden Säuren erhalten worden, mit deren Untersuchung jetzt begonnen worden ist. Da sich diese wohl noch längere Zeit hinziehen kann, sollen vorerst die bei der Untersuchung der Cholalsäure erhaltenen Resultate mitgetheilt werden.

Cholalsäure und Phosphorpentachlorid.

Die Cholalsäure wurde der Einwirkung des Phosphorpentachlorids in der Absicht unterworfen, die Sauerstoffatome, mit Ausnahme des einen in der Carboxylgruppe, — falls die Cholalsäure überhaupt eine solche enthält — durch Chlor zu ersetzen; für jedes als Keton- oder Aldehydsauerstoff vorhandene Atom O mussten 2 Cl für Hydroxylgruppen je 1 Cl eintreten. Wurden dann die Chloratome mittelst Reductionsmittel durch Wasserstoff ersetzt, so konnte man hoffen, zu einer Carbonsäure zu kommen, die ausser der Carboxylgruppe nur noch Reste von Kohlenwasserstoffen enthielt.

Leider führt aber die Einwirkung des Phosphorpentachlorids, wie die so vieler Reagentien, bei der Cholalsäure zu Derivaten, die in keiner Weise zum Kristallisiren zu bringen sind.

Bringt man bei 105° getrocknete Cholalsäure (1 Mol.) mit PCl_5 (4 Mol.) zusammen, so ist die Einwirkung nicht sehr heftig. Destillirt man alsdann im Kohlensäurestrome bei 110° das Phosphoroxychlorid ab, so hinterbleibt ein Rückstand, der mit Wasser nur schwach reagirt und dessen Eigenschaften eine genauere Untersuchung aussichtslos erscheinen lassen. Hierauf ward Cholalsäure mit dem zehnfachen Gewicht an Chloroform übergossen und wurden 4 Mol. Phosphorpentachlorid allmälig zugegeben. Während eine regelmässige Salzsäureentwickelung statt hat, lösen sich die beiden Componenten im Chloroform auf, nur beansprucht die völlige Lösung der Cholalsäure etwas mehr als die 4 Mol. des Phosphorpentachlorids. Arbeitet man bei —10°, so wird die Lösung ausserordentlich dunkel, bei gewöhnlicher Temperatur und selbst beim Erhitzen am Rückflusskühler bleibt sie hellroth.

Sie wird mit Wasser so lange gewaschen, als dieses noch sauer reagirt. Alsdann wird die Chloroformlösung vom Wasser getrennt und verdunstet, worauf der Rückstand mit Natronlauge aufgenommen wird, welche etwas Harz hinterlässt. Aus der alkalischen Lösung fällt Salzsäure eine chlorhaltige organische Säure aus, die wiederum in Chloroform gelöst wurde. Zum Krystallisiren war sie nicht zu bringen, und so ward der Chloroformrückstand, nachdem er im Schwefelsäureexsiccator neben Paraffin bis zur Gewichtsconstanz getrocknet war, der Analyse unterworfen. Diese ergab einen Gehalt von 52,6 % C, 5,6 % H und 33,6 % Cl. Somit bleiben für Sauerstoff noch 8,2 % übrig, was für die Existenz einer Carboxylgruppe in der Cholalsäure spricht.

Schmelzen der Cholalsäure mit Kaliumhydroxyd.

Dem schmelzenden Aetzkali gegenüber zeigte sich die Cholalsäure merkwürdig beständig. Sie mischt sich mit diesem, selbst nach Zusatz einiger Tropfen Wasser, so schlecht, dass man besser ihr Kaliumsalz zu den Versuchen verwendet. Diese Versuche wurden in folgendem sehr bequemen Apparat ausgeführt.

Ein grösseres Reagensglas von 3 cm. Durchmesser und 30 cm. Länge war mittelst eines Korkes in einen noch weiteren

Glasmantel aus Jenenser Glas von der gleichen Form aber 4,5 cm. Durchmesser und 35 cm. Länge hineingehängt. In dem äusseren Mantel wurden Substanzen von bekanntem Siedepunkt erhitzt, und so war die Temperatur der Schmelze festgestellt. Selbst bei 250° wird das Glas vom schmelzenden Kali durchaus nicht angegriffen, und da man im Apparat ca. 100 gr. auf einmal verarbeiten und die Vorgänge im Innern genau beobachten kann, ist das Verfahren handlicher als das Arbeiten in Silber- oder Nickelgefässen, welche in ähnlicher Weise erhitzt werden, so lange es sich nicht um noch grössere Substanzmengen handelt.

Bedient man sich des Anilindampfes als Wärmequelle, so erhält man aus der Schmelze die Cholalsäure unverändert zurück, und ebenso verhält sie sich im Naphtalindampf, also bei 218°. Dagegen findet bei der Siedetemperatur des Bensoësäureamylesters, also bei 245°, Einwirkung statt.

Allmälig trennt sich die Schmelze bei dieser Temperatur in 2 Schichten, deren obere schwach gelb gefärbte man leicht abheben kann. Eine solche Schmelze erfordert etwa 40 Minuten Zeit. Cholalsäure ist in ihr nicht mehr enthalten, aber es ist das aus dieser entstandene Product in keiner Weise zum Krystallisiren zu bringen, und musste deshalb in anderer Art identificirt werden. Das abgehobene wurde in sehr wenig Wasser gelöst, mit dem Fünffachen an absolutem Alkohol übergossen und durch Einleiten von Kohlensäure möglichst das Kaliumcarbonat abgeschieden. Das Filtrat wurde zur Trockne gedampft und hierauf der Rückstand in einem Liter Wasser gelöst. Diese Lösung wurde fractionirt gefällt, und zwar mit je 3 gr. Bariumacetat, welche in 50 cbcm. Wasser gelöst waren. (20 gr. Säure waren mit dem dreifachen Gewicht an Kaliumhydroxyd als Kaliumsalz verschmolzen worden.) Es wurden 4 Niederschläge erhalten, worauf die ihrerseits nicht weiter durch Bariumacetat fällbare Lösung mit Salzsäure versetzt wurde.

Die 4 Bariumsalze wurden mit einer Lösung von kohlensaurem Natrium übergossen. Nach längerem Digeriren auf dem Wasserbade wurde vom Bariumcarbonat abfiltrirt. Die

Filtrate wurden hierauf mit Salzsäure ausgefällt und die entstandenen Niederschläge mit Aether aufgenommen, ebenso wurde die nicht mehr durch Bariumacetat fällbare Flüssigkeit behandelt.

Die so erhaltenen ätherischen Lösungen wurden mit $CaCl_2$ entwässert und deren Rückstand im Vacuumexsiccator bis zur Gewichtsconstanz getrocknet.

Die 5 mit den so erhaltenen Fractionen ausgeführten Elementaranalysen ergaben:

1.	0,2179 gr.	Substanz	gaben	0,5770	Kohlensäure	und 0,1870	Wasser.
2.	0,2411 »	»	»	0,6246	»	» 0,2073	»
3.	0,2373 »	»	»	0,6422	»	» 0,2073	»
4.	0,2137 »	»	»	0,5777	»	» 0,1867	»
5.	0,2226 »	»	»	0,5817	»	» 0,1937	»

Daraus berechnet sich ein Procentgehalt an:

C	72,22	73,10	74,12	73,64	71,28,
H	9,55	9,55	9,71	9,73	9,69.

Man wird natürlich die mittelste der durch die fractionirte Fällung erhaltenen Portionen als die reinste ansehen, und deren Analysenzahlen stimmen, in Anbetracht dessen, dass es sich nicht um einen krystallisirten Körper handelt, recht gut auf die Formel $C_{19}H_{30}O_3$.

	Berechnet für $C_{19}H_{30}O_3$:	Gefunden:
C =	74,51	74,12,
H =	9,80	9,71.

Ueber das Verschmelzen der Cholalsäure mit Aetzkali liegt auch schon eine ältere Angabe vor. Gorup-Besanez[1]) hat sie einmal ohne genauere Berücksichtigung der angewandten Temperatur in einer Silberschaale ausgeführt. Ausser einer nicht krystallisirten Säure, über die er keine weiteren Angaben macht, hat er dabei das Auftreten von Essigsäure und Propionsäure festgestellt. Hiernach lässt sich der Verlauf des Schmelzprocesses durch folgende Gleichung ausdrücken:

$$C_{24}H_{40}O_5 + O_2 = C_2H_4O_2 + C_3H_6O_2 + C_{19}H_{30}O_3.$$

[1]) Annalen der Chemie, Bd. 157, S. 285.

Es handelt sich also, wie zu erwarten, um einen Oxydationsvorgang, und wirklich kann man, wenn man die nach dieser Gleichung theoretisch sich berechnende Menge an Kaliumchlorat, um den Oxydationsvorgang zu erleichtern, zusetzt, eine fast quantitative Ausbeute an dem Körper $C_{19}H_{30}O_3$ erzielen, allerdings fällt er dann viel dunkler gefärbt aus.

Irgend ein krystallisirtes Derivat von $C_{19}H_{30}O_3$ war bisher nicht zu erhalten, auch Oxydations- und Reductionsversuche haben nicht zu einem solchen geführt, weshalb die weitere Untersuchung der Verbindung unterblieben ist.

Dehydrocholsäure.

Im Laufe der Arbeit wurde dieselbe zuerst aus der Cholalsäure durch Oxydation mit Brom erhalten. Schwemmt man z. B. 4 gr. alkoholfreie Cholalsäure in 30 cbcm. Wasser auf und gibt tropfenweise Brom zu, so wird die Flüssigkeit trübe, während sich der grössere Theil der Cholalsäure zusammenballt und unangegriffen bleibt. Aus der von dieser abgegossenen Flüssigkeit setzen sich bald mikroskopische Krystalle ab.

Um eine bessere Ausbeute an denselben nach diesem Verfahren zu erhalten, verfährt man so, dass man die Cholalsäure in Eisessig löst und diese Lösung in Wasser giesst. Die feine Vertheilung, in der nunmehr die der Oxydation zu unterwerfende Säure vorhanden ist, begünstigt die Einwirkung des Broms bedeutend.

Die erhaltenen Krystalle waren in Aether unlöslich, leicht löslich in absolutem Alkohol, und liessen sich aus 50procentigem Alkohol sehr gut umkrystallisiren. Die neue Säure wurde so in verfilzten Nadeln gewonnen, deren Schmelzpunkt nach zahlreich wiederholtem Umkrystallisiren bei 222° lag. Die zur Ausführung der Elementaranalyse bestimmte Menge wurde bei 105° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet.

0,2306 gr. Substanz gaben 0,6122 gr. CO_2 und 0.1825 gr. Wasser.
0,2204 » » » 0,5856 » » » 0,1762 » »

	Berechnet für Dehydrocholsäure von der Formel $C_{24}H_{34}O_5$:	Gefunden:	
C =	71,64	72,36	72,42,
H =	8,45	8,81	8,90.

Die Uebereinstimmung zwischen den theoretisch berechneten und wirklich gefundenen Zahlen lässt sehr zu wünschen übrig. Der Entdecker der Dehydrocholsäure Hammarsten[1]) hat seiner Zeit ganz ähnliche Analysenergebnisse bei achtfacher Wiederholung dieser erhalten.

Er sah sich dadurch veranlasst der Dehydrocholsäure einen höheren Kohlenstoffgehalt zuzuschreiben, ihr die Formel $C_{25}H_{36}O_5$, auf welche diese Analysen viel besser stimmen, zu geben, womit dann auch im Molecül der Cholalsäure 25 Kohlenstoffatome anzunehmen sind. Etwa 5 Jahre später beschäftigte sich Mylius[2]) mit der Frage. Wenn auch die Analysen der auch von ihm dargestellten freien Dehydrocholsäure nicht die Frage nach der Anzahl der Kohlenstoffatome bei der hochmolecularen Zusammensetzung dieser ohne Weiteres entschieden, so zeigte er doch mit Hilfe des Trialdoxims dieser Säure, das er dargestellt hat, dass wohl an den 24 Kohlenstoffatomen nicht gezweifelt werden könne.

Die auffallend abweichenden Analysenzahlen waren Veranlassung, das chemische Verhalten der Säure genauer zu untersuchen. Sie war, so wie sie durch Oxydation erhalten war, natürlich völlig alkalilöslich gewesen, jetzt war sie das aber nicht mehr, folglich musste sie sich beim Umkrystallisiren aus Alkohol geändert haben. Extrahirte man die als analysenrein angesehene Substanz mit einer Lösung von Natriumcarbonat, so hinterblieb ein bedeutender Rückstand.

Da die Oxydation mit Brom sehr unbequem für den vorliegenden Fall, wurde die für die Untersuchung weiter nöthige Dehydrocholsäure nach dem schönen Verfahren von Hammarsten[3]), nämlich mittelst einer 10procentigen Lösung von Chromsäure in Eisessig, dargestellt. Auch im weiteren Verlauf der Arbeit gelang es nicht, etwas Besseres dafür zu finden, weder Wasserstoffsuperoxyd noch Ferricyankalium erwiesen sich als brauchbar, salpetrigsaures Gas führt Cholalsäure in ein nicht krystallisirendes Harz über u. s. w.

---

[1]) Ber. der deutsch. chem. Ges., Bd. 14, S. 72.
[2]) Ber. der deutsch. chem. Ges., Bd. 19, S. 2007.
[3]) Ber. der deutsch. chem. Ges., Bd. 14, S. 71.

Es wurden alsdann grössere Mengen völlig alkalilöslicher Dehydrocholsäure öfters aus Alkohol umkrystallisirt und schliesslich mit einer Lösung von Natriumcarbonat extrahirt. Der Rückstand wurde nunmehr, bis sich der Schmelzpunkt 221° nicht mehr änderte, weiter aus Alkohol umkrystallisirt, und dessen Analyse ergab nun, dass es sich um Dehydrocholsäureäthylester handelt.

0,2018 gr. Substanz gaben 0,5397 CO_2 und 0,1649 H_2O.

		Berechnet für $C_{24}H_{33}O_5C_2H_5$:	Gefunden:
C	=	72,56	72,60,
H	=	8,84	9,07.

Nachdem dieses erkannt war, wurde zur Gewinnung analysenreiner freier Dehydrocholsäure so verfahren, dass ihr Natriumsalz mit Salzsäure zerlegt wurde. Die so erhaltene Säure wurde alsdann aus Aceton umkrystallisirt. Zur Analyse diente speciell ein Präparat, welches aus einem Gemisch von Aceton und Benzol erhalten war.

Es ergab Zahlen, welche zeigen, dass die Dehydrocholsäure unter dieser Bedingung mit $^1/_2$ Molecül Krystallbenzol sich ausscheidet.

0,2218 gr. Substanz gaben 0,5959 CO_2 und 0,1691 H_2O.

0,7135 gr. Substanz verloren beim Trocknen bei 100° bis zur Gewichtsconstanz 0,0635 gr.

		Berechnet für $C_{24}H_{34}O_5 + {}^1/_2\,(C_6H_6)$:	Gefunden:
C	=	73,47	73,27,
H	=	8,39	8,49,
$^1/_2\,(C_6H_6)$	=	8,84	8,89.

0,2128 gr. der bei 110° getrockneten Substanz ergaben 0,5714 CO_2 und 0,1663 H_2O.

		Berechnet für $C_{24}H_{34}O_5$:	Gefunden:
C	=	71,64	71,41,
H	=	8,45	8,48.

Die in der angegebenen Art aus Aceton und Benzol krystallisirte Säure schmolz bei 236°. Sie schmeckt ausserordentlich bitter.

Auch von dieser so gereinigten Säure wurde eine grössere Menge nunmehr längere Zeit mit Alkohol gekocht und alsdann zur Trockne gedampft. Der Rückstand wurde mit einer Lösung von Natriumcarbonat extrahirt und das Zurückgebliebene wiederum aus Alkohol umkrystallisirt.

0.1922 gr. Substanz gaben 0,5108 CO_2 und 0,1540 H_2O.

		Berechnet für $C_{24}H_{33}O_5C_2H_5$:	Gefunden:
C	=	72,56	72,47,
H	=	8,84	8,90.

Aus diesen ausführlichen Daten folgt also mit Sicherheit, dass die Formel der Dehydrocholsäure $C_{24}H_{34}O_5$ ist, und damit ist denn endgültig die Frage nach der Formel der **Cholalsäure** selbst erledigt, diese kann dann nur ebenfalls 24 Kohlenstoffatome enthalten und muss ihr die von Strecker bereits zuertheilte Formel $\mathbf{C_{24}H_{40}O_5}$ zukommen.

Die Dehydrocholsäure gehört also zu derjenigen Klasse von Säuren, welche sich beim einfachen Kochen mit Alkohol bereits esterificiren.

Ihre, ganz im Gegensatz zur Cholalsäure, ausgezeichnete Krystallisationskraft legte es nahe, zu versuchen, ob sie nicht aus den reichlichen Mutterlaugen der Cholalsäure, welche diese bei dem häufig zu wiederholenden Umkrystallisiren aus absolutem Alkohol, wenn man sie rein haben will, liefert, zu erhalten ist. Mylius hat geäussert, dass, da in diesen so viel Rohmaterial bleibe, vielleicht eine weitere Säure, welche nicht wieder auskrystallisire, in ihnen enthalten ist.

Zum Zweck der Oxydation wurde Mutterlauge, aus der bei zweijährigem Stehen nichts mehr auskrystallisirt war, auf dem Wasserbade völlig von Alkohol befreit. 200 gr. des harzigen Rückstandes wurden in 1800 cbcm. Eisessig gelöst und in 10 Portionen genau nach der Hammarsten'schen Vorschrift oxydirt. Sie verbrauchten durchschnittlich 160 cbcm. einer 10 procentigen Lösung von Chromsäure in Eisessig. 20 gr. reine Cholalsäure würden je 180 cbcm. verbraucht haben, folglich enthält aller Wahrscheinlichkeit nach der Rückstand der auf dem Wasserbade zur Trockne gebrachten Mutterlauge ca. 90 % Cholalsäure.

Giesst man die Eisessiglösung des Oxydationsproducts der Mutterlauge in viel Wasser, so scheidet sich ein Niederschlag ab, der unter dem Mikroskop aus schönen Nadeln besteht, ganz ähnlich denen, die unter der gleichen Bedingung die Cholalsäure liefert, nur ist der grosse Unterschied der, die Letzteren — also die Dehydrocholsäure — sind leicht in Alkalien löslich, während die aus der Mutterlauge erhaltenen darin unlöslich sind. Das Umkrystallisiren aus Alkohol und Essigäther wurde so lange wiederholt, bis der Rückstand der letzten Mutterlauge den gleichen Schmelzpunkt wie das auskrystallisirte, nämlich 221°, zeigte.

0,2004 gr. Substanz gaben 0,5340 CO_2 und 0,1618 H_2O.

		Berechnet für $C_{24}H_{33}O_5C_2H_5$:	Gefunden:
C	=	72,56	72,60,
H	=	8,84	8,98.

Die Zahlen, welche die Analyse ergibt, weisen darauf hin, dass der Aethylester der Dehydrocholsäure vorliegt. Und in der That lösen die in kalter Natronlauge oder Natriumcarbonatlösung unlöslichen Krystalle sich beim Kochen mit Ersterer sehr bald auf. Aus der Lösung lässt sich dann durch Salzsäure eine organische Säure fällen, die ganz das Verhalten der Dehydrocholsäure zeigt, und deren Analyse, nachdem sie aus Aceton umkrystallisirt war, durchaus mit dieser Voraussetzung stimmende Zahlen gab. Der Schmelzpunkt lag bei 239°.

0,2106 gr. Substanz gaben 0,5534 CO_2 und 0,1588 H_2O.

		Berechnet für $C_{24}H_{34}O_5$:	Gefunden:
C	=	71,64 %	71,66 %,
H	=	8,45 %	8,30 %.

Hiermit ist die Ursache für das Verschwinden so grosser Mengen roher Cholalsäure in den Mutterlaugen klar gelegt. Auch sie hat wie die Dehydrocholsäure die Eigenschaft, schon beim einfachen Kochen mit Alkohol sich theilweise zu esterificiren, und der auf diese Art entstandene Ester krystallisirt aus der Mutterlauge nicht wieder aus.

Diese Eigenschaft ist, wenn auch nicht häufig, so doch schon öfter auch bei sonstigen Säuren beobachtet, und unter

den substituirten Zimmtsäuren finden sich bekanntlich einige, die durch Umkrystallisiren aus Alkohol quantitativ verestert werden.

Bei der Gelegenheit mag gleich noch einiges Weitere über das Verhalten der Dehydrocholsäure mitgetheilt werden. Sie ist als eine recht schwache Säure zu bezeichnen. Löst man sie z. B. in überschüssigem Ammoniak und dampft die Lösung auf dem Wasserbade zur Trockne, so hinterbleibt nicht das Ammoniaksalz, sondern, wie die Untersuchung zeigt, wiederum Dehydrocholsäure.

Das neutrale Ammoniaksalz ist dagegen in Wasser sehr schwer löslich, erinnert darin also an harnsaures Ammoniak.

Ebenso löst sich die Säure leicht in einem Ueberschuss von Calciumhydroxyd oder Bariumhydroxyd, sobald aber die Lösung des Letzteren neutral wird, fällt ein unlösliches amorphes Bariumsalz aus. Leitet man in eine siedende, überschüssiges Bariumhydroxyd enthaltende Lösung Kohlensäure, so ist nach dem Abfiltriren vom Ungelösten im Filtrat weder Barium noch Säure zu finden, es muss sich also unter diesen Bedingungen ein ganz unlösliches organisch-saures Bariumsalz bilden.

Gegenüber Salzsäure ist die Dehydrocholsäure von ganz besonderer Beständigkeit. Kocht man einige Gramm mit 25procentiger Säure so lange am Rückflusskühler, bis sich Alles löst, wozu lange Zeit und viel Flüssigkeit gehört, und verdampft alsdann auf dem Wasserbade, so erweist sich der Rückstand als unveränderte Säure. Der Schmelzpunkt stimmt darauf, und krystallisirt man ihn aus Alkohol um, so geht er theilweise in den Ester über, dessen Schmelzpunkt ebenfalls der erwartete ist.

Nachdem das Verhalten der Mutterlauge zu einem so günstigen Resultate geführt hatte, lag es nahe, auch zu versuchen, wie sich die rohe Cholalsäure, die nach dem Verfahren von Mylius so sehr leicht zugänglich ist — erst das häufige Umkrystallisiren ist zeit- und, wie wir jetzt wissen, materialraubend — gegenüber der Oxydation mit Chromsäure in Eisessig verhalten würde. Zur Probe wurde ein Liter Galle nach Mylius verarbeitet und die rohe harzige Cholal-

säure ohne Weiteres in Eisessig gelöst und oxydirt. Beim Eingiessen in Wasser wurden die erhofften Krystalle erhalten, die aus Aceton umkrystallisirt wurden. Die erste Krystallisation, die einen Schmelzpunkt von 228° zeigte, wog 8 gr., die zweite weniger reine ca. 5 gr. Man kann auf diese Art also rascher aus der Galle reine Dehydrocholsäure als Cholsäure bekommen, und, da von der Ersteren ausgehend, leichter krystallisirte Derivate erhalten werden, welche zu weiteren Spaltungsversuchen einladen, mag die leichte Zugänglichkeit des Materials Manchem recht erwünscht sein.

Dehydrocholsäure und Phosphorpentachlorid.

Da die Dehydrocholsäure aller Wahrscheinlichkeit nach eine Carboxyl-, eine Keton- und 2 Aldehydgruppen[1]) enthält, wurde sie, nachdem sie mit Chloroform übergossen war, der Einwirkung von reichlich vier Molecülen Phosphorpentachlorid ausgesetzt. Schon in der Kälte löste sich wie bei der Cholalsäure allmälig Alles auf. Darauf wurde das Ganze in Wasser gegossen (Eingiessen in Aethyl- oder Amylalkohol führten auch nicht zu krystallisirten Producten), reichlich mit Wasser gewaschen und schliesslich das Chloroform auf dem Wasserbade verdunstet.

Der Rückstand wurde in starker alkoholischer Natronlauge gelöst und unter Zugabe von Zinkstaub, um möglichst viel vom eingetretenen Chlor gleich wieder durch Wasserstoff zu ersetzen, längere Zeit am Rückflusskühler gekocht. Nachdem alsdann genügend Kohlensäure eingeleitet war, um alles Natriumhydroxyd in Carbonat überzuführen, wurde das Magma auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft und nun mit 90% Alkohol wiederum extrahirt. Dieses Auszuges Verdampfungsrückstand wurde mit Wasser aufgenommen. 70 gr. in Arbeit genommene Dehydrocholsäure hinterliessen so 10 gr. eines schön krystallisirten, in Wasser unlöslichen Körpers.

Dieser wurde aus Alkohol, dem einige Tropfen Eisessig zugesetzt waren, sonst ist er in ihm zu schwer löslich, um-

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd, 20, S. 1979.

krystallisirt, und zeigt schliesslich den sich nicht mehr ändernden Schmelzpunkt 257°.

0,2039 gr. Substanz gaben 0,4911 CO_2 und 0,1436 H_2O.
0,2006 » » » 0,4847 CO_2 und 0,1480 H_2O.
0,1843 » » » 0,1163 AgCl.
0,1792 » » » 0,1152 AgCl.

		Berechnet für $C_{24}H_{32}O_3Cl_2$:	Gefunden:	
C	=	65,60	65,68	65,85,
H	=	7,29	7,84	8,17,
Cl	=	16,17	15,60	15,84.

Aus Gründen, die wir gleich kennen lernen, wäre Bichlorisodehydrocholal eine passende Bezeichnung für diesen Körper. Da er im Schmelzröhrchen nach dem Schmelzen wieder zu Krystallen erstarrte, wurde ein grösserer Versuch in dieser Hinsicht mit ihm angestellt, und das führte zu der Beobachtung, dass er die Temperatur von 257° erträgt, ohne eine Aenderung zu erleiden, ein bei seiner complexen Zusammensetzung gewiss auffallendes und bei den der Cholalsäure nahestehenden Producten zum ersten Male beobachtetes Vorkommen.

Einige Gramm wurden im Lothar Meyer'schen Ofen mehrere Stunden über ihren Schmelzpunkt erhitzt und die erstarrte Schmelze hernach erst aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt, und dann in absolutem Alkohol gelöst. Durch fractionirtes Fällen mit Petroläther wurde eine Portion erhalten, die bei 252° schmolz und zur Analyse gelangte. Nochmaliges Umkrystallisiren, welches aber der Materialmangel verhinderte, hätte ihn gewiss auf 257° erhöht.

0,1778 gr. Substanz gaben 0,4300 CO_2 und 0,1195 H_2O.

		Berechnet für $C_{24}H_{32}O_3Cl_2$:	Gefunden:
C	=	65,60	65,94,
H	=	7,29	7,49.

Auch eine Chlorbestimmung wurde gemacht. Wie alle in dieser Arbeit erwähnten sollte sie durch Glühen mit Kalk im offnen Rohr bewerkstelligt werden. Diese ergaben jedoch bei dieser Körperklasse nur, wenn zum Schluss sehr heftig

geglüht wird, den völligen Chlorgehalt, und da bei dieser Analyse das noch nicht erkannt war, fiel die Bestimmung 1,5 % zu niedrig aus.

Dieser chlorhaltigen Substanz kommt auch die Eigenschaft zu, sich in concentrirter Schwefelsäure unter ganz geringer Gasentwickelung bei etwa 50° mit Leichtigkeit zu lösen. Giesst man diese Lösung alsdann in's Wasser, so fällt ein Körper aus, der sich sehr gut aus Alkohol umkrystallisiren lässt, er schmilzt bei 242° und erweist sich als chlorfrei:

0,2550 gr. Substanz gaben 0,6690 CO_2 und 0,1973 H_2O.
0,1942 gr. Substanz gaben 0,5091 CO_2 und 0,1470 H_2O.

	Berechnet für $C_{24}H_{34}O_5$:	Gefunden:	
C =	71,64	71,55	71,49,
H =	8,45	8,61	8,43.

Darnach ist er isomer mit der Dehydrocholalsäure, er ist indifferent, indem er sich weder in Säuren noch in Alkalien löst. Man könnte ihn deshalb vielleicht als Isodehydrocholal bezeichnen, sein chlorhaltiger Stammkörper würde dann den bereits angeführten Namen Bichlorisodehydrocholal erhalten. Wie sich der Letztere aus der Dehydrocholalsäure, wenn diese eine Carboxylgruppe enthält, unter den angegebenen Bedingungen bildet, ist allerdings nicht leicht einzusehen.

Die wässerige Lösung der Natriumsalze, welche nach dem Abfiltriren des Bichlorisodehydrocholals erhalten worden war, wurde mit Bariumchlorid ausgefällt. Von dem Bariumsalz ward abfiltrirt und das Filtrat mit Salzsäure ausgefällt. Die Fällung wurde mit Aether extrahirt, und der Aether hinterliess beim Verdunsten ein Harz, welches zu seiner Lösung 40 cbcm. Normalnatronlauge brauchte. Diese Lösung wurde mit je 13 cbcm. Normalsalzsäure ausgefällt, und so kam man zu drei Fractionen, von denen nach der nöthigen Reinigung Elementaranalyse gemacht wurde.

Fraction I: 0,2090 gr. Substanz gaben 0,5365 CO_2 und 0,1709 H_2O.
» II: 0,2084 » » » 0,5125 CO_2 » 0,1646 H_2O.
» III: 0,2045 » » » 0,4943 CO_2 » 0,1493 H_2O.

Daraus berechnet sich der Procentgehalt an Kohlenstoff zu 70,0 — 67,07 — 65,91 % und an Wasserstoff zu 9,1 — 8,79 — 8,12 %. Die Abweichungen unter einander sind zu gross, als dass sich hieraus etwas Sicheres schliessen liesse.

Das durch Fällung erhaltene unlösliche Bariumsalz wurde mit einer Lösung von Natriumcarbonat auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft und der Rückstand mit Alkohol extrahirt. Der Alkohol hinterliess nach dem Eindampfen 22 gr. eines braunen Natriumsalzes, welches in Wasser gelöst und mit je 15 cbcm. Normalsäure gefällt wurde. Die Fällungen wurden mit Aether ausgeschüttelt, der Aether alsdann mit Chlorcalcium und Thierkohle einen Tag stehen gelassen, filtrirt und bis auf einen geringen Rest abdestillirt. Dieser verdunstete zuerst an der Luft, dann im luftleer gemachten Exsiccator neben Paraffin und Schwefelsäure.

Nachdem sein Gewicht constant geworden war, kam er zur Elementaranalyse. Fraction IV und V schienen krystallinisch, Fraction VI nicht, und von Fraction VII wurden nicht mehr zur Analyse ausreichende Mengen erhalten.

Fraction IV: 0,2053 gr. Substanz gaben 0,5096 CO_2 und 0,1610 H_2O.
» V: 0,2099 » » » 0,5260 CO_2 » 0,1587 H_2O.
» VI: 0,2096 » » » 0,5295 CO_2 » 0,1584 H_2O.

Daraus berechnet der Procentgehalt an Kohlenstoff zu

67,7 % — 68,34 % — 68,89 %,

an Wasserstoff zu

8,73 % — 8,41 % — 8,43 %.

Nun verlangt die Formel der Dehydrocholsäure, wenn in ihr ein Hydroxyl durch Chlor vertreten ist:

		Berechnet für $C_{24}H_{33}O_4Cl$:	Gefunden:
C	=	68,66	68,34,
H	=	7,86	8,41,
Cl	=	8,45	8.63.

Die Chlorbestimmung in Fraction V ergab:

0,2027 gr. Substanz gaben 0,0798 Ag Cl.

Darnach kann es keinem Zweifel unterliegen, dass hier eine gechlorte Dehydrocholsäure vorliegt. Es wurde daraufhin versucht, auch ein Silbersalz zu gewinnen. Zu dem Zweck wurde die Verbindung mit Ammoniak in Lösung gebracht, dessen Ueberschuss durch Kochen möglichst entfernt und nun die Lösung durch Silbernitrat mit der Vorsicht gefällt, dass das zuerst Ausfallende für sich abfiltrirt wurde. Das weiter ausfallende Salz gab dann Folgendes:

0,1880 gr. exsiccator-trockene Substanz lieferte 0,0508 gr. AgCl = 0,0382 gr. Ag.

Berechnet für $C_{24}H_{32}O_4ClAg$ Monochlordehydrocholsaures Silber:		Gefunden:
Ag	20,49	20,32.

Die vielen Versuche, Fraction V zum Krystallisiren zu bringen und damit reine Monochlordehydrocholsäure in Händen zu haben, führten schliesslich zum Ziele, indem sich 50procentige Essigsäure als ein für diese Substanz geeignetes Krystallisationsmittel erwies. Es konnte so eine kleine Menge von dieser, die bei Weitem nicht zur Analyse ausreichte, erhalten werden. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 241°, und eine Betrachtung unter Mikroskop zeigt, dass das Hanfwerk von Blättchen, als welches sie dem blossen Auge erscheint, sich aus ganz ausserordentlich dünnen durchsichtigen Tafeln zusammensetzt.

Es scheint eine lohnende Aufgabe zu sein, aus dieser Säure das Chloratom zu eliminiren, indem man an seine Stelle ein Wasserstoffatom bringt. Die unreine gechlorte Säure ist ja nicht schwer aus der Dehydrocholsäure zu erhalten, und sie diente zu den weiteren Versuchen. Als für die Entchlorung geeignetes Mittel bietet sich z. B. die Verwendung von Jodwasserstoffsäure und Phosphor dar. Die Benutzung einer Jodwasserstoffsäure vom spec. Gew. 1,9 führte zur Verharzung, dagegen fiel bei Verwendung einer solchen vom spec. Gew. 1,50 nach sechsstündigem Kochen am Rückflusskühler auf Zusatz von Wasser eine Säure aus, die in Chloroform leicht löslich, daraus durch Petroläther gut fällbar war. Sie erwies sich als chlorfrei, und als ihr Schmelz-

punkt von 239° sich nicht beim Umkrystallisiren änderte, wurde eine Elementaranalyse gemacht, deren Zahlen völlig auf Dehydrocholsäure stimmen.

0,1835 gr. Substanz gaben 0,4825 CO_2 und 0,1402 H_2O.
0,1907 gr. Substanz gaben 0,5005 CO_2 und 0,1440 H_2O.

		Berechnet für $C_{24}H_{34}O_5$:	Gefunden:	
C	=	71,64 %	71,71 %	71,58 %,
H	=	8,45 %	8,50 %	8,41 %.

Darnach ist die Einwirkung der Jodwasserstoffsäure kaum anders verlaufen, als sonstige starke Säuren auch wirken würden. Ihre Gegenwart veranlasst den Austritt des Chloratoms als Salzsäure, indem unter Spaltung eines Molecüls Wasser an dessen Stelle eine Hydroxylgruppe tritt. Im Einschussrohr erst wird wohl der Ersatz des Chlors durch Wasserstoff nach dieser Methode möglich sein.

Auch bei der Dehydrocholsäure hat also die Verwendung des Phosphorpentachlorids nicht zu dem schon bei dessen Einwirkung auf die Cholalsäure erstrebten Ziele der schliesslichen Gewinnung einer nur Kohlenwasserstoffreste neben der Carboxylgruppe enthaltenden Säure geführt.

Noch ein weiteres zu dem Zwecke eingeschlagenes Verfahren hat ebenfalls versagt. Mylius hat gezeigt, mit welcher Leichtigkeit sich das Trialdoxim der Cholalsäure gewinnen lässt. Durch Reduction dieses wurde versucht, zu einer dreifach amidirten Dehydrocholsäure zu kommen. Salpetrige Säure sollte an die Stelle der Amidogruppe Hydroxylgruppen bringen, deren Ersatz durch Wasserstoffatome wohl nicht allzu schwer wäre. Die praktische Durchführung der Idee scheiterte bisher daran, dass es nicht möglich war, bei der Reduction des Trialdoxims, die nur mit alkalischen Mitteln ausführbar ist, zu greifbaren Producten zu gelangen.

Verbesserte Methode der colorimetrischen Bestimmung des Blutfarbstoffgehaltes in Blut und in anderen Flüssigkeiten.

Von

F. Hoppe-Seyler.

Die zahlreichen Vorschläge und in Anwendung gezogenen Methoden zur Bestimmung des Blutfarbstoffgehaltes sind mit Ausnahme der spectrophotometrischen Methoden von Vierordt, Hüfner u. A., welche absolute photometrische Resultate erstreben, mit so grossen Fehlerquellen behaftet, dass sie im besten Falle nur zu einer unsicheren Schätzung führen. Die colorimetrischen Methoden, in welchen Blutlösungen mit rothem Glas oder einer Mischung von Carmin und Pikrinsäure in der Färbung verglichen werden, sind aus dem Grunde zu verwerfen, weil die Farbe des rothen Glases oder des Pikrocarmin mit der der Blutlösung nie genau übereinstimmen. Die Methode, welche ich selbst angegeben und vielfach benutzt habe[1]), war von diesem Mangel frei, aber es ist für das Auge schwierig, scharfe Farbenvergleichung auszuführen, wenn die zu vergleichenden Bilder nicht wie im Gesichtsfelde des Soleil'schen Saccharimeter dicht an einander grenzen und nur durch eine scharfe Linie von einander geschieden sind. Im Soleil'schen Saccharimeter ist die Bestimmung so ausserordentlich scharf bei Anwendung von weissem Licht, weil bei nicht vollkommen gleicher Rotation beider Seiten des Gesichtsfeldes nicht allein die Lichtintensität in Summa verschieden ist, sondern auch die Qualität der Farbe, d. h. die

[1]) Handbuch der physiol.-chem. Analyse, 5. Auflage, 1883, S. 435.

einzelnen Spectralfarben in ihrer Intensität verschiedene Aenderung erfahren. Man kann sich leicht überzeugen, dass bei Anwendung von Natriumlicht die Bestimmungen mit dem Soleil'schen Apparate an Genauigkeit abnehmen, indem die Erscheinungen dann lediglich die des Halbschattenapparates sind.

1. Die Normallösung von Kohlenoxydhämoglobin.

Zwei- bis dreimal umkrystallisirtes Kohlenoxydhämoglobin aus Hunde- oder Pferdeblut nach dem von mir angegebenen Verfahren dargestellt[1]) wird in wenig Wasser gelöst bei Stubentemperatur (die Lösung erhält meist einen Gehalt von 3—4,5 % Hämoglobin), einige Minuten lang ein Strom von CO-Gas hindurch geleitet, dann werden mit der filtrirten Lösung Flaschen von 15 bis 30 cbcm. Inhalt gefüllt, in jede wenige Sekunden etwas CO-Gas eingeleitet, dann mit gutem Korkstopfen fest verschlossen. Ausserdem werden ein paar Portionen der Lösung von 20 cbcm. genau abgemessen in Platinschalen gebracht, verdampft auf dem Wasserbade, der Rückstand bei 120° im Luftbade getrocknet und nach dem Erkalten im Exsiccator gewogen. Die in den Flaschen mit guten Korkstopfen eingeschlossenen Lösungen bleiben in ihrem Gehalte an CO-Hämoglobin viele Jahre unverändert. Verdunstet man einen Theil der Lösung bei niederer Temperatur, so hinterbleiben allein die Krystalle dieser Verbindung, und der Procentgehalt ist unverändert geblieben nach vielen Jahren, auch wenn die Lösung oft dem Sonnenlicht ausgesetzt war und ihre Aufbewahrung im warmen Zimmer geschah. Es ist immerhin zweckmässig, die Flaschen bei ziemlich gleichmässiger Wärme, z. B. im Keller, aufzubewahren. Es können solche Lösungen ohne Zweifel als Handelsartikel für sehr billigen Preis und constantem Gehalt bezogen werden. Bei Luftzutritt werden die Lösungen allmälig zersetzt. Hat man

---

[1]) A. a. O., S. 291. Es ist genau auf die Vorschriften zu achten, um sicher zu sein, dass der Blutfarbstoff frei von Serumeiweissstoffen ist.

eine Flasche geöffnet und einen Theil der Lösung ausgegossen, will aber den Rest in der Flasche weiter aufbewahren, so leitet man CO-Gas im kräftigen Strome ein und schliesst mit dem Kork im Schaume des in die Flüssigkeit eingeleiteten Gases.

Diese concentrirte Normallösung dient zur Blutfarbstoffbestimmung erst nach passender Verdünnung. Soll die colorimetrische Bestimmung in Flüssigkeitsschichten von 5 mm. Dicke ausgeführt werden, so verdünnt man kurz vor der Ausführung wenige genau abgemessene Cubikcentimeter der concentrirten Lösung so weit mit Wasser, dass die Lösung ungefähr 0,200 gr. und zwar mindestens 0,18 und höchstens 0,23 gr. CO-Hämoglobin für 100 cbcm. der Lösung enthält. Der Gehalt muss genau bekannt sein. Es wird dann nach dem Verdünnen nochmals CO-Gas durch die Lösung geleitet, und da man nur wenige Cubikcentimeter derselben für die Bestimmung nöthig hat, die übrige verdünnte Normallösung in Flaschen gebracht, die damit fast gefüllt, mit Korkstopfen gut verschlossen und kühl gestellt werden. Es ist zweckmässig, die angegebene Verdünnung zu wählen, weil ebenso bei grösserer Concentration wie bei noch grösserer Verdünnung die Farbenvergleichung weniger scharfe Resultate liefert. Das Auge besitzt für kleine Unterschiede in der Tiefe der Färbung die grösste Empfindlichkeit nur bei der angegebenen Verdünnung (wenn die Flüssigkeit in 5 mm. dicker Schicht beobachtet wird); ist die Farbe wesentlich dunkler oder blasser, so nimmt diese Empfindlichkeit ab. Von der Richtigkeit dieser Sätze kann man sich mittelst der zu schildernden Bestimmungsmethode selbst am besten überzeugen.

2. Vorbereitung der Blutlösung, in welcher der Blutfarbstoffgehalt bestimmt werden soll.

Das Blut, dessen Gehalt an Farbstoff bestimmt werden soll, wird aufgefangen und dann gewogen in einem cylindrischen, mit Fuss versehenen Glasröhrchen, welches ungefähr 5 cbcm. Inhalt fasst, genau in $^1/_{10}$ cbcm. getheilt ist und durch leichten eingeschliffenen Glasstopfen verschlossen wird. Dasselbe wird beim Wägen auf die Wagschale gestellt. Wenige Tropfen

(selbst 1 bis 2 Tropfen) Blut genügen, wenn die nothwendige Verdünnung mit Vorsicht ausgeführt wird. Es ist kaum erforderlich hinzuzufügen, dass wenn nur ein Blutstropfen zu Gebote steht, auch nach der Methode von Vierordt das Blut in ein getheiltes Capillarrohr aufgenommen und die Bestimmung für das Volumen des Blutes ausgeführt werden kann.

Ist das Gewicht ermittelt, so werden 3 bis 4 cbcm. Wasser hinzugefügt, mit einem Glasstäbchen gut umgerührt und ein Tropfen nicht zu concentrirter Sodalösung hinzugefügt. Es ist Sorge zu tragen, dass beim Umrühren die Zertheilung des Fibrincoagulum eine vollständige sei; dieselbe gelingt bei wenigen Tropfen Blut ohne Schwierigkeit. Der Zusatz von ein wenig Soda oder einer Spur sehr verdünnter Natronlauge ist stets erforderlich, um klare Lösung zu erhalten und alle Blutkörperchen zu lösen, besonders dringend nöthig ist dieser Zusatz für Blut mit kernhaltigen Blutkörperchen (Vögel, Amphibien, Fische), weil ohne denselben sich bald blutfarbstoffhaltige Niederschläge bilden. Es ist auch erforderlich, dass die angegebene Behandlung des Blutes mit Wasser etc. recht bald geschieht, damit das Fibrin nicht Blutfarbstoff festhält. Mit der Spritzflasche spült man dann mit einigen Tropfen Wasser das Glasstäbchen ab, verdünnt die Lösung bis auf genau 5 cbcm., leitet einen langsamen Strom von CO-Gas durch ein fein ausgezogenes Glasröhrchen ein, unterhält ihn (mit Unterbrechungen, um Verlust zu vermeiden) für 1 bis 2 Minuten und filtrirt dann durch ein kleines Filter in ein anderes in $^{1}/_{10}$ cbcm. getheiltes Glasröhrchen mit Fuss, bis dasselbe genau 4 cbcm. enthält, und schreitet nun zur Bestimmung des Blutfarbstoffgehaltes in dieser Flüssigkeitsquantität.

3. Die colorimetrische Doppelpipette.

Die Farbenvergleichung wird ausgeführt in einem Apparate, der in Fig. 1 etwas von der Seite, in Fig. 2 gerade von vorn dargestellt ist. Die zwischen beiden Figuren gegebene Skizze gibt die Ansicht eines ideellen horizontalen Durchschnitts der Doppelpipette.

In der Messingfassung festgehalten durch zwei in Fig. 2 sichtbare Schraubenmuttern befinden sich zwei Messingrahmen von 5 mm. Durchmesser, plan abgeschliffen. Die Hälfte der Rahmenöffnung ist erfüllt bei beiden mit einem planparallel abgeschliffenen und polirten Glaskörper von 5 mm. Durchmesser. Diese Messingrahmen sind in der Weise zusammengelegt, dass jedem von ihnen nach aussen eine genau eben geschliffene und polirte Glasplatte dicht anliegt, während sie

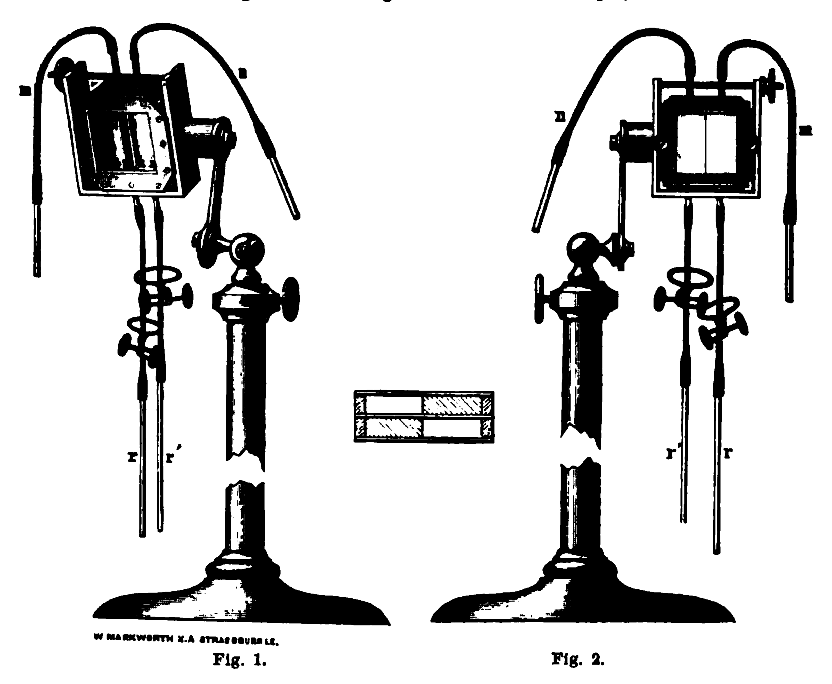


Fig. 1. Fig. 2.

von einander getrennt sind durch eine dritte solche Glasplatte, welche mit der einen Seite dem einen, mit der anderen dem anderen Rahmen anliegt; dabei liegt der Glaskörper in dem einen Rahmen nach links, im anderen nach rechts. Diese Stellung wird durch die Skizze des Durchschnitts erläutert. Die Durchschnitte der Messingrahmen sind in dieser Skizze feiner, die der Glaskörper lichter schattirt. Die übrig bleibenden Hohlräume in den Pipetten von 5 mm. Durchmesser sind nicht schattirt. Beide Rahmen sind unten und oben durchbohrt

und tragen an den Bohrungen Röhrchen zum Ansatz von Kautschukschläuchen. Werden die Glasröhrchen r und r′ in die Lösungen eingestellt, oben an n oder m angesaugt, so füllen sich bei Oeffnung der Quetschhähne die Hohlräume im einen und im anderen Rahmen mit den Flüssigkeiten. Sieht man dann gerade von vorn, wie in Fig. 2, auf den Apparat, so fallen die Begrenzungsflächen der Flüssigkeiten an den Glaskörpern in eine feine mittlere verticale Linie zusammen, so dass man beide Flüssigkeiten bei gleicher Lichtintensität unmittelbar neben einander sieht, nur durch eine Linie von einander getrennt. Zur Belichtung benutzt man zweckmässig eine weisse, nicht glänzende Papierfläche bei Tageslicht oder weisse Wolken am Himmel.

4. Ausführung der Bestimmung.

Man setzt das Röhrchen r′ Fig. 2 in die verdünnte Normallösung, saugt bei n, öffnet den Quetschhahn, bis der linksseitige Hohlraum mit der Lösung gefüllt ist, setzt dann das Röhrchen r in die Blutlösung, saugt an m, öffnet den Quetschhahn, bis der rechtsseitige Hohlraum gefüllt ist, und vergleicht die Färbung beider Flüssigkeiten entweder mit unbewaffnetem Auge oder durch ein kurzes Fernrohr. Ist die Blutlösung dunkler als die Normallösung (so soll es sein), so lässt man sie zurückfliessen, fügt aus einer Bürette Wasser in kleiner gemessener Menge hinzu, welches vorher in einer Flasche mit CO-Gas geschüttelt ist, rührt mit dem Röhrchen r um, füllt die rechte Seite der Pipette wieder mit der Mischung, lässt ablaufen und füllt sie wieder und vergleicht jetzt die Farbe mit der der Normallösung. Man lässt dann, wenn sie noch immer zu dunkel ist, wieder ablaufen, fügt eine gemessene Menge Wasser hinzu, rührt um, saugt in die Pipette wieder auf und vergleicht die Färbung mit der der anderen Seite. In dieser Weise fährt man mit dem Hinzumischen von Wasser so lange fort, bis die Färbung der weiter und weiter verdünnten Blutlösung gleich geworden ist derjenigen der verdünnten Normallösung. Dann wird abgelesen und notirt, wie viel Wasser zu den 4 cbcm. der verdünnten Blutlösung hinzugefügt ist,

um dies Ziel zu erreichen. Schliesslich ist es zweckmässig, mit dem Verdünnen noch weiter fortzufahren und zu ermitteln, wie viel Wasser zugesetzt werden muss, um die Blutlösung deutlich erkennbar heller erscheinen zu lassen, als die verdünnte Normallösung.

Die Berechnung des Resultates ergibt sich aus dem geschilderten Verfahren sehr einfach. Ist die Färbung der verdünnten Blutlösung durch Wasserzusatz gleich derjenigen der verdünnten Normallösung geworden, so enthalten beide Flüssigkeiten gleichviel Hämoglobin. Das Volumen, welches die verdünnte Blutlösung durch den Wasserzusatz erreicht hat, in Cubikcentimetern multiplicirt mit dem Hämoglobingehalt in 1 cbcm. gibt den Hämoglobingehalt in der abgewogenen Blutmenge. Es sei z. B. 0,450 gr. Blut abgewogen, mit Wasser zu 5 cbcm. verdünnt, filtrirt, mit CO behandelt und vom Filtrat 4 cbcm. zur Bestimmung in der Doppelpipette verwendet. Nach Hinzufügen von 18 cbcm. Wasser sei die Färbung der Mischung gleich befunden einer verdünnten CO-Hämoglobin-Normallösung von 2,25 Milligr. des Farbstoffs in 1 cbcm. Die 4 cbcm. Blutlösung werden dann verdünnt sein auf $4 + 18 = 22$ cbcm. Da aber das abgewogene Blut nicht 4, sondern 5 cbcm. dieser ersten Verdünnung gegeben hatte, würden diese zu 27,5 cbcm. zu verdünnen gewesen sein, um den Gehalt der verdünnten Normallösung an Hämoglobin zu erhalten. Die abgewogenen 0,450 gr. Blut enthalten sonach $27,5 \times 2,25 = 61,875$ Milligr. oder 13,75 % Blutfarbstoff.

Steht nur sehr wenig Blut zur Disposition und ist dasselbe sehr arm an rothen Blutkörperchen, so kann der Fall eintreten, dass die Verdünnung auf 5 cbcm. Flüssigkeit eine Lösung liefert, welche weniger Blutfarbstoff enthält als die verdünnte Normallösung. Fürchtet man dies, so kann das Blut auf 3 cbcm. verdünnt und vom Filtrat 2,5 cbcm. zur weiteren Verdünnung und Farbenvergleichung genommen werden. Ist die Verdünnung der Blutlösung aber zu stark geworden, so füllt man mit derselben die eine Seite der Doppelpipette, misst 4 cbcm. der verdünnten Normallösung

ab und verdünnt sie mit Wasser in gemessenen Mengen, bis die Färbung beider Seiten gleich geworden ist. Man berechnet dann den Gehalt der weiter verdünnten Normallösung an Blutfarbstoff und hieraus den der Blutlösung.

Nach den Ergebnissen einer grösseren Zahl von Bestimmungen, welche ich im Laufe von 4 Jahren mit dieser colorimetrischen Doppelpipette unter verschiedenen Verhältnissen besonders mit reinen Lösungen von CO-Hämoglobin ausgeführt habe, hat sich als möglicher Fehler unter nicht ganz günstigen Verhältnissen 4 % des Hämoglobingehaltes ergeben. Der Fehler hat jedoch in Wirklichkeit selten 2 % desselben überstiegen, und ist in nicht geringerer Zahl von Bestimmungen verschwindend gering gewesen. Die Genauigkeit erwies sich als mehr als doppelt so gross als nach meinem älteren Verfahren in getrennten Gefässen mit planparallelen Glaswandungen von gleichem Innendurchmesser.

Diese Doppelpipette kann man natürlich auch vor dem Spalt des Spectralapparates so aufstellen, dass die obere Hälfte des Spaltes das Licht durch die eine, und die untere durch die andere Flüssigkeit erhält. Bei richtiger Einstellung werden auch hier beide Spectra nur durch eine feine Linie von einander getrennt. Eine grössere Genauigkeit habe ich gegenüber der einfachen colorimetrischen Prüfung ohne prismatische Zerlegung der Lichtstrahlen nicht gefunden, weder bei Anwendung directen Sonnenlichtes noch bei Lampenlicht, mit sehr engem oder weiterem Spalt. Die Dunkelheit der Absorptionsstreifen sowie ihre Breite zeigte keine erkennbaren Differenzen, wenn bei einfacher Belichtung durch weisses Papier und Beobachtung mit unbewaffnetem Auge oder Fernrohr Gleichheit der Färbung beider Flüssigkeiten gefunden war.

Diese spectroskopische Vergleichung mittelst der Doppelpipette lässt aber noch Bestimmungen von Blutfarbstoff ausführen in solchen Flüssigkeiten, welche ausser Blutfarbstoff noch andere Farbstoffe enthalten, die an der Stelle der Absorptionsstreifen des CO-Hämoglobins keine Absorptionen von Licht veranlassen. Man kann natürlich jedes Spectroskop hierzu verwenden. Das Stativ der Doppelpipette gestattet die

Stellung derselben für diese Untersuchung so zu verändern, dass die Grenzlinie zwischen den beiden Flüssigkeiten in der Doppelpipette eine horizontale Lage erhält. Es ist selbstverständlich, dass auch mit den Spectrophotometern die Prüfung vorgenommen werden kann, ob die eine oder die andere der beiden zu vergleichenden Flüssigkeiten in der Doppelpipette eine dunklere Färbung besitzt.

Wenn die Bestimmung beendet ist, werden beide Seiten des Apparates nach Ablassung der Farbstofflösungen und Entfernung der Quetschhähne durch mehrmaliges Aufsaugen von destillirtem Wasser und Ausblasen desselben gereinigt. Wird der Apparat länger als einen Tag nicht wieder benutzt, so wird derselbe nach Abschrauben der in Fig. 2 beiderseits sichtbaren Schraubenmuttern aus einander genommen, die Gläser sorgfältig mit Wasser gereinigt, abgetrocknet und wieder zusammengefügt.

Die colorimetrische Doppelpipette ist nach der von mir gegebenen principiellen Anordnung entworfen und in vorzüglicher Weise ausgeführt von Herrn Universitätsmechanikus E. Albrecht in Tübingen und die Glastheile derselben aus der berühmten Werkstätte von Steinheil in München. Der Apparat ist nur brauchbar bei sehr exacter Anfertigung; die Gläser müssen genau plan geschliffen sein und ohne Anwendung von Fett und anderen Flüssigkeiten wasserdicht an einander und an den Flächen der Messingrahmen anliegen.

Strassburg, März 1892.

Ueber Thymolglycuronsäure.

Von

Dr. med. F. Blum,
Assistenzarzt an der medicinischen Klinik.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Freiburg i. B., Medicinische Abtheilung.)
(Der Redaction zugegangen am 23. März 1892.)

In Nummer 5 des Jahrganges 1891 der «Deutschen Medicinischen Wochenschrift» habe ich über das «Verhalten des Harns nach grossen Thymoldosen» berichtet und am Schlusse jenes Aufsatzes eine Beobachtung, die mir aufgefallen war, mit folgenden Worten erwähnt:

«Der Thymolharn, mit Salzsäure und unterchlorigsaurem Natron bis zum Verschwinden der Grünfärbung behandelt, nimmt eine gelbe Farbe an und trübt sich. Allmählich scheiden sich an der Wand und an dem Boden des Gefässes kleine weissliche Krystalle ab.» «Diese Krystalle stellen eine Säure dar, welche in Wasser unlöslich ist, in Weingeist und Aether sich leicht löst. Die Substanz ist stickstofffrei und reich an Chlor.»

Diese Säure ist ein Chlorsubstitutionsproduct der Thymolglycuronsäure, die nach dem innerlichen Gebrauche von Thymol im Harne auftritt und sich nach der im Folgenden zu beschreibenden Methode leicht und quantitativ abscheiden lässt.

Besonders günstige Umstände gestatteten mir, im Laufe von $1^1/_4$ Jahren · ca. 300 gr. Thymol, zumeist in Dosen von 3 gr. pro die, innerlich einzugeben[1]).

Bei diesen Dosen habe ich niemals irgend welche Beschwerden gesehen.

---

[1]) Darunter waren Fälle von Taenien-, Trichinenerkrankung und Darmcatarrh.

Der Harn wurde nach der Thymoleingabe in getrennten Portionen aufgefangen und nur derjenige, welcher stärker nachdunkelte, wurde weiter verarbeitet. Der fast schwarze Harn wurde in ein Becherglas filtrirt, dann mit etwa einem Drittel seines Volums an concentrirter Salzsäure und darauf mit mindestens eben so viel einer verdünnten Lösung von unterchlorigsaurem Natron versetzt. Schon bei Zimmertemperatur bilden sich in den nächsten 48 Stunden in der Flüssigkeit zahlreiche bis 5 Millimeter lange Krystallnadeln. Nach etwa 96 Stunden ist die Krystallisation beendigt. — Der Inhalt des Becherglases wird nun auf ein grosses Filter gegossen. Die Krystalle, sowie ein gelber Brei bleiben zurück; das Filtrat ist undurchsichtig gelb, setzt aber keine Krystalle mehr ab.

Der Filterrückstand wird zunächst mit Wasser gewaschen und dann mit Sodalösung übergossen. Es filtrirt eine schmutzig braune Flüssigkeit, die das Natriumsalz der Säure, sowie Chlorverbindungen des Thymols und des Thymohydrochinons enthält.

Diese letzteren Körper sind aus den Aetherschwefelsäuren des Thymols und des Thymohydrochinons bei Gegenwart von Salzsäure abgespalten worden. Durch die Einwirkung des Chlors werden sie alsdann substituirt.

Um genannte Verunreinigungen von dem Salze abzutrennen, wird mehrfach mit Aether ausgeschüttelt, bis die wässerige Flüssigkeit rothbraun und vollständig klar geworden ist und der Aether keinen Farbstoff mehr aufnimmt.

Der wässerigen Lösung wird Schwefelsäure zugesetzt. — Sofort fällt, wie besondere Versuche zeigten, quantitativ die Säure in feinen weissen Nadeln aus.

Der Niederschlag wird auf ein Filter gebracht, mit Wasser gewaschen und über Schwefelsäure bis zum constanten Gewicht getrocknet.

Die Substanz wurde darauf noch einmal in gleicher Weise gereinigt und stellte dann eine weisse krystallinische Masse dar.

Schön ausgebildete Krystalle werden erhalten, wenn man eine alkoholische Lösung der Substanz in Wasser einfliessen lässt.

Auch aus siedendem Wasser kann man die Säure umkrystallisiren.

Die über Schwefelsäure getrockneten Krystalle ergaben bei der Analyse Werthe, welche für die Formel

$$C_8H_{11}ClO_4$$

gut stimmen.

	Berechnet für $C_8H_{11}ClO_4$:	Gefunden: I.	II.	III.
C =	46,49 %	46,46 %	—	46,46 %,
H =	5,33 %	5,59 %	—	5,47 %,
Cl =	17,12 %	17,15 %	17,29 %	17,01 %.

Die C- und H-Bestimmungen sind durch Verbrennungen mit Bleichromat gewonnen worden.

No. I. 0,1675 gr. Substanz gaben
0,2853 gr. CO_2 = 46,46 % Kohlenstoff, und
0,0842 gr. H_2O = 5,59 % Wasserstoff.

No. III. 0,1717 gr. Substanz gaben
0,2925 gr. CO_2 = 46,46 % Kohlenstoff, und
0,0846 gr. H_2O = 5,47 % Wasserstoff.

Die Chlorbestimmungen wurden nach der Methode von Carius vorgenommen.

No. I. 0,1482 gr. Substanz ergaben
0,1027 gr. AgCl = 17,15 % Chlor.

No. II. 0,2008 gr. Substanz ergaben
0,1403 gr. AgCl = 17,29 % Chlor.

No. III. 0,1825 gr. Substanz ergaben
0,1254 gr. AgCl = 17,01 % Chlor.

Da die Substanz eine starke Säure ist und ihre Alkalisalze neutrale Reaction besitzen, konnte auf alkalimetrischem Wege das Aequivalentverhältniss der Säure festgestellt werden:

0,1328 gr. Substanz erforderten 3,4 cbcm. $^1/_{10}$-Normal-Kalilauge = 0,019 gr. Kaliumhydroxyd.

Daraus berechnet sich das Aequivalentgewicht der Säure zu 391,4, während der Formel $C_8H_{11}ClO_4$ das Moleculargewicht 206,5 zukommt. Es ist also jedenfalls die aus den Analysen berechnete einfachste Formel zu verdoppeln. Vorausgesetzt, dass die neue Säure einbasisch ist, müsste ihr somit die Formel $C_{16}H_{22}Cl_2O_8$ zukommen.

Hieraus ergab sich die Wahrscheinlichkeit, dass eine zweifach gechlorte Thymolglycuronsäure vorlag. Die später zu beschreibenden Spaltungsversuche haben diese Annahme vollauf bestätigt.

Diese Dichlorthymolglycuronsäure besitzt folgende Eigenschaften:

In kaltem Wasser ist sie unlöslich; in sehr viel kochendem Wasser geht sie in Lösung. In Alkohol, Aether, Aceton, Benzol und Alkalien ist die Substanz leicht löslich.

Der Schmelzpunkt der Säure liegt bei 125—126° C., aber schon bei 116° C. fängt die Substanz an, sich zusammenzuballen.

Lösungen der Säure drehen die Ebene des polarisirten Lichtes nach links.

Das specifische Drehungsvermögen der Säure in alkoholischer Lösung wurde zu

$$\alpha_D = -66^\circ\ 11'$$

gefunden.

1,1387 gr. Substanz in 14,837 gr. Alkohol gelöst ergaben bei 100 Millimeter langer Röhre im Natriumlicht einen Drehungswinkel von 305'.

Ammoniakalische Silberlösung wird von der Säure nicht reducirt, ebensowenig alkalische Kupferoxydlösung, selbst nicht bei starkem Erhitzen.

Gegen Mineralsäuren zeigt diese Glycuronsäureverbindung in der Kälte grosse Widerstandsfähigkeit.

Bei den bisher dargestellten Glycuronsäureverbindungen[1]) ist Linksdrehung stets beobachtet worden; einige derselben reduciren alkalische Kupferoxydlösung in der Wärme. Es sind offenbar diejenigen, welche durch Alkali in der Wärme leicht gespalten werden.

Salze der Dichlorthymolglycuronsäure.

Um das Silbersalz zu erhalten, wurde die Säure in wenig Ammoniak gelöst und dann Silbernitratlösung zugetropft.

---

[1]) S. die ausführliche Darstellung der Glycuronsäurelitteratur in dem Lehrbuch von Neubauer u. Vogel, jetzt Huppert: «Analyse des Harns», 1890, 9. Auflage, S. 116—125.

Es entstand ein voluminöser weisser Niederschlag, der auf einem Filter aufgesammelt wurde. Bei dem Versuche, den Filterrückstand von dem überschüssigen salpetersauren Silber durch Auswaschen mit Wasser zu befreien, ging das Salz in Lösung (Bildung eines Niederschlages im Filtrat bei Ansäuern mit Salpetersäure), so dass mit dieser Procedur zu einer Zeit aufgehört werden musste, zu welcher noch nicht sicher alles überschüssige Silber entfernt war. Diesem Umstande ist es wohl zuzuschreiben, dass die Analyse keine brauchbaren Zahlen lieferte[1]).

Das Baryumsalz wurde in der Weise gewonnen, dass die Säure in Barythydratlösung aufgenommen wurde.

Dann wurde ein CO_2-Strom eingeleitet und dadurch das überschüssige Baryum ausgefällt. Die durch Filtration gereinigte Lösung des Ba-Salzes wurde über Schwefelsäure eingeengt. Es entstanden bei dem Verdunsten des Wassers allmählich weisse Krusten, die beim vollständigen Austrocknen zu einer weissen festen Masse erstarrten.

Eine Analyse des Salzes ergab:

Ba = 14,54 %.

0,2125 gr. Substanz lieferten
0,0525 gr. $BaSO_4$ = 14,54 % Baryum.

Für $(C_{16}H_{21}Cl_2O_8)_2Ba$ berechnet sich der Procentgehalt an Baryum auf 14,27 %.

Spaltung.

Es wurde zum Zwecke der Spaltung eine grössere Menge der Substanz mit 5 % Schwefelsäure im Destillationsapparat mehrere Stunden erhitzt.

Schon sehr bald bildeten sich schwarze Flocken in dem Kolben, während im Uebrigen die Flüssigkeit leicht gelb, aber durchsichtig klar geworden war.

---

[1]) Gefunden wurden 22,50 % Ag. Die Formel $C_{16}H_{21}Cl_2O_8Ag$ verlangt 20,77 % Ag. In dem Filtrat + Waschwasser krystallisirten allmählich perlmutterglänzende Plättchen des Salzes aus. Ihre Menge war zu einer Analyse zu gering.

In der Vorlage sammelte sich zunächst die Emulsion eines goldgelben Oeles mit Wasser. Erst bei längerem Stehen setzten sich grosse Oeltropfen am Boden des Gefässes ab. Die letzteren wurden im Scheidetrichter von der wässerigen Emulsion abgetrennt. Diese aber, sowie der durch Filtration von den Flocken etc. befreite Destillationsrückstand wurden so lange mit Aether ausgeschüttelt, bis derselbe sich nicht mehr gelb färbte.

Dem überdestillirten ätherfreien Oele wurde durch Filtriren sein geringer Wassergehalt entzogen (derselbe bleibt im Filter haften). Die Analyse ergab darauf Werthe, welche für ein

«Dichlorthymol»

gut stimmen.

		Berechnet für $C_{10}H_{12}Cl_2O$:	Gefunden:
C	=	54,84 %	54,96 %,
H	=	5,48 %	5,99 %,
Cl	=	32,42 %	32,56 %.

0,1469 gr. Substanz gaben
0,2961 gr. CO_2 = 54,96 % Kohlenstoff, und
0,0790 gr. H_2O = 5,96 % Wasserstoff.
0,1702 gr. Substanz gaben
0,2240 gr. AgCl = 32,56 % Chlor.

Der etwas zu hohe Werth für Wasserstoff erklärt sich aus dem Umstande, dass das Bleichromat mit dem Oele kalt gemischt werden musste, um vorzeitige Zersetzung zu vermeiden.

Das durch Aetherauszug gewonnene Dichlorthymol enthielt neben dem Oele noch Aether, Alkohol und Wasser.

Dieser Theil der Ausbeute wurde mit Natronlauge und Benzoylchlorid behandelt. Nur langsam bildet sich dabei die Benzoylverbindung des Dichlorthymols.

Obwohl die Spaltung der Dichlorthymolglycuronsäure quantitativ verlief, war doch die Menge des verfügbaren Dichlorthymols so gering, dass ausgiebige Versuche mit diesem bisher noch nicht bekannten Körper nicht möglich waren. Ueber die Stellung der beiden Chloratome im Thymol konnte festgestellt werden, dass diese im Benzolkern und nicht in einer Seitenkette sitzen; denn bei Behandlung mit Natriumamalgam konnte das Chlor nur langsam und unvollständig durch

Wasserstoff ersetzt werden. Dass bei dieser Reaction Thymol entstand, zeigte sich durch den charakteristischen Geruch an.

Nach der Theorie sind drei im Benzolring substituirte Dichlorthymole möglich. In Analogie zu ähnlichen Chlorirungen ist anzunehmen, dass die beiden Chloratome in Ortho- und Para-Stellung zur OH-Gruppe sich befinden.

Dem aus der Dichlorthymolglycuronsäure abgespaltenen Dichlorthymol käme somit folgende Constitution als die wahrscheinlichste zu:

CH_3
Cl / \ Cl
| |
| | OH
\ /
C_3H_7.

Der zweite Paarling der ursprünglichen Säure war in dem durch Aether gereinigten Destillationsrückstand zu suchen.

Die Analyse der gepaarten Säure: $C_{16}H_{22}Cl_2O_8$, sowie diejenige des einen Paarlings: $C_{10}H_{12}Cl_2O$ liessen für den zweiten Bestandtheil die Formel $C_6H_{10}O_7$ mit einer Carboxylgruppe, d. i. die Formel der Glycuronsäure, erschliessen.

Die Lösung dieser Substanz zeigte in der That die Eigenschaften der Glycuronsäure: sie reducirte alkalische Kupferlösung stark schon bei schwachem Erwärmen; sie drehte ferner die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts. Danach kann nicht bezweifelt werden, dass das zweite Spaltungsproduct die Glycuronsäure ist.

Constitution der Dichlorthymolglycuronsäure.

Schmiedeberg und Meyer, welche zuerst beide Bestandtheile einer gepaarten Glycuronsäure — der Camphoglycuronsäure — analysirt haben[1]), haben die Verbindung als eine Ketonsäure[2]) angesehen und den Glycuronsäurerest in folgender Weise geschrieben:

$$+ CO(CHOH)_4COOH.$$

---

[1]) «Ueber Stoffwechselproducte nach Campherfütterung», Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. III, 1879, S. 422.

[2]) L. c., S. 444.

Bei der Spaltung sollte alsdann unter Wasseraufnahme einmal ein Alkohol — das Campherol — und zweitens ein Aldehyd — die Glycuronsäure — entstehen.

Auf Grund der späteren Forschungen schreibt Huppert in seinem Lehrbuche über die gepaarten Glycuronsäuren[1]: «Sie spalten sich unter Aufnahme von 1 Mol. Wasser in Glycuronsäure und die zugehörigen Alkohole.» Die Verbindung selbst wird als eine «äther- oder glycosidartige» bezeichnet.

Beide Anschauungen tragen dem Umstande Rechnung, dass die gepaarten Glycuronsäuren die Eigenschaften, welche die Zucker mit der Aldehydgruppe charakterisiren, d. i. die Reduction alkalischer Kupferlösung, verloren haben.

Hinsichtlich der Hypothese von Schmiedeberg und Meyer ist zu constatiren, dass unter den zahlreichen Reactionen der Ketone keine Spaltung eines solchen in einen Aldehyd unter Wasseraufnahme bisher bekannt geworden ist. Man hat deshalb mit Recht jene erste Auffassung fallen gelassen[2]).

Aber auch die zweite Auffassung von der ätherartigen Paarung unter Wasseraustritt trifft für die Dichlorthymolglycuronsäure nicht zu.

Selbst bei monatelangem Stehen über Schwefelsäure wurde kein Krystallwasser abgespalten; als dann aber die Substanz auf 100—105° C. längere Zeit erhitzt wurde, trat eine grössere Gewichtsabnahme, als 1 H_2O entsprach, ein, und die Substanz zersetzte sich. Diese Gewichtsabnahme war je nach der Dauer des Erhitzens eine verschiedene. Wahrscheinlich hätte ein Zeitpunkt gefunden werden können, bei dem der Verlust etwa 1 H_2O entsprochen hätte; allein ein solches Verfahren hiesse den Thatsachen Gewalt anthun. Selbst wenn die Säure in einem solchen Falle nicht zersetzt würde, wäre damit doch nicht bewiesen, dass es sich bei dem Gewichtsverluste um Krystallwasser gehandelt hat, denn inner-

---

[1]) L. c., S. 119.

[2]) S. auch hierzu die Reactionen der Zucker mit der CO-Gruppe und diejenigen der Aldehydzucker in Emil Fischer's Vortrag in den Berichten der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 23. Jahrgang, 1890, S. 2114—2141.

halb des Moleküls der Glycuronsäure ist mehrfach Gelegenheit zu Condensationen gegeben. Schon Schmiedeberg und Meyer haben die leichte Anhydridbildung innerhalb der Glycuronsäure constatirt. Es sind mehrere Glycuronsäureverbindungen mit 1 H_2O Krystallwasser beschrieben worden. Es wäre nicht ohne Interesse, festzustellen, ob es sich in einzelnen Fällen nicht um Austritt von Wasser infolge von Condensation gehandelt hat.

Was nun die Constitution der Dichlorthymolglycuronsäure betrifft, so bleibt, weil die Verbindung die Eigenschaften eines Zuckers mit der COH-Gruppe verloren hat, nur die Annahme übrig, dass der Aldehyd als zweiwerthiger Alkohol in Reaction getreten ist. Diese Anschauung erklärt vollständig, dass der gepaarten Säure die reducirenden Eigenschaften fehlen und dass eine Wasserabspaltung ausgeblieben ist. Sie erklärt ferner, dass sich die Dichlorthymolglycuronsäure in einen Alkohol und einen Aldehyd trennen lässt. Dabei steht sie durchaus in Analogie mit zahlreichen anderen Aldehydreactionen.

Die Constitutionsformel würde demnach auf folgende Weise sich veranschaulichen lassen:

CH_3
Cl (Ring) Cl
(OH)
C_3H_7

Dichlorthymol

COOH
|
CH(OH)
|
CH(OH)
|
CH(OH)
|
CH(OH)
|
$CH < \begin{matrix} OH \\ OH \end{matrix}$

Glycuronsäure
(als zweiwerthiger Alkohol)

CH_3 COOH
Cl (Ring) Cl |
$(CH[OH])_4$
|
— O — CH — OH
C_3H_7

Dichlorthymolglycuronsäure.

Auftreten der Thymolglycuronsäure.

Külz hat das Auftreten von Thymolglycuronsäure nach Verfütterung von Thymol wahrscheinlich gemacht[1]). Es ist ihm aber nicht gelungen, die ganze Verbindung oder einen Paarling derselben zur Analyse zu bringen.

In dem hier geschilderten Verfahren liegt eine äusserst einfache Methode der Darstellung der genannten Säure vor.

Inwieweit die Chlorirung der freien Säure auch bei anderen Glycuronsäureverbindungen anwendbar ist, kann ich zur Zeit noch nicht angeben.

Nur so viel möchte ich bemerken, dass auch nach Verfütterung anderer aromatischer Substanzen im Harne Körper auftreten, deren Chlorsubstitutionsproducte gut krystallisiren.

Die Gegenwart von Thymolglycuronsäure lässt sich schon nach Eingabe eines Grammes Thymol durch die Methode der Chlorirung nachweisen.

In einem Falle schied ein Mann nach 3 gr. Thymol innerhalb 24 Stunden so viel Thymolglycuronsäure aus, wie 0,2025 gr. Dichlorthymolglycuronsäure entspricht.

Da in der im Vorstehenden beschriebenen Methode der Darstellung ein quantitatives Verfahren zur Abscheidung der Thymolglycuronsäure aufgefunden ist, so ist damit die Möglichkeit gegeben, Glycuronsäure- und Schwefelsäurepaarungen in ihrem wechselseitigen Verhalten genau zu studiren.

In dem Harn zweier Hunde konnte selbst nach Dosen von 4 gr. Thymol keine Thymolglycuronsäure nachgewiesen werden. Ebensowenig trat nach Verfütterung von Thymohydrochinon eine durch Chlorirung darstellbare Glycuronsäureverbindung auf. Die Aetherschwefelsäuren aber waren stark vermehrt.

Thymochinon wurde von den Hunden schon bald nach der Eingabe erbrochen.

---

[1]) Zeitschrift für Biologie, Bd. 27, Neue Folge IX, S. 252.

Fasst man die Resultate der Untersuchungen[1]) über die Ausscheidung des Thymols beim Menschen zusammen, so wurde nachgewiesen, dass das Thymol, soweit es nicht mit den Fäces abgeht[2]), im Harne ausgeschieden wird, als:

das Chromogen eines grünen Farbstoffs,
als Thymolschwefelsäure,
» Thymolglycuronsäure, und
» Thymohydrochinonschwefelsäure.

---

[1]) S. Deutsche Medic. Wochenschrift, 1891, No. 5.

[2]) Es ist mir mehrfach gelungen, Thymol in den Fäces nachzuweisen.

Die Oxydationsproducte der Mercaptursäuren.

Von

Georg König.

(Mitgetheilt von E. Baumann[1]).)

(Der Redaction zugegangen am 25. April 1892.)

Nach Verfütterung von Chlor-, Brom- oder Jod-Benzol werden im Organismus von Hunden eigenartige schwefelhaltige Verbindungen erzeugt, welche mit Glycuronsäure gepaart als sehr stark linksdrehende Substanzen im Harn der Thiere auftreten[2]). Letztere werden durch verdünnte Mineralsäuren schon in der Kälte in Glycuronsäure und in schwer lösliche Säuren gespalten, welche letztere Baumann und Preusse[3]) wegen ihrer Fähigkeit, mit Alkalien Mercaptan abzuspalten, Mercaptursäuren benannt haben.

Von diesen Säuren sind bis jetzt die Chlor-[4]), Brom-[5]) und Jod[6])-Phenylmercaptursäure und die halogenfreie Phenylmercaptursäure[5]), $C_{11}H_{13}SNO_3$, dargestellt und untersucht worden.

Baumann und Preusse[5]) erkannten die nahen Beziehungen der Mercaptursäuren und des Cystins und Baumann[7])

[1]) Auszug aus der Dissertation des Verf., Erlangen 1887.

[2]) Baumann, diese Zeitschr., Bd. 8, S. 190.

[3]) D. Chem. Ges., Bd. 12, S. 806; diese Zeitschr., Bd. 5, S. 309.

[4]) Jaffé, D. Chem. Ges., Bd. 12, S. 1092.

[5]) Baumann u. Preusse, ebendas., Bd. 12, S. 806; diese Zeitschr., Bd. 5, S. 309 ff.

[6]) Schmitz, Ueber p-Jodphenylmercaptursäure, Inaug.-Dissert., Freiburg i. B. 1886.

[7]) Diese Zeitschr., Bd. 8, S. 299.

zeigte, dass dieselben Substitutionsproducte des durch Reduction aus dem Cystin gebildeten Cystëins sind. Diese nachstehenden Constitutionsformeln der Mercaptursäuren und des Cystëins, welche von Baumann[1]) und Preusse (l. c.) begründet worden sind, bringen die Beziehungen dieser Körper zu einander zu einem einfachen und klaren Ausdruck:

$$CH_3 - C \left\langle \begin{array}{l} SH \\ \text{———} COOH \\ NH_2 \end{array} \right. \qquad CH_3 - C \left\langle \begin{array}{l} S(C_6H_5) \\ \text{————} COOH \\ NH(COCH_3) \end{array} \right.$$

Cystëin = αα-Amido-thio-propionsäure. Phenylmercapturs. = αα-Acetamido-thiophenylpropionsäure.

In den aus den Halogenbenzolen gebildeten Chlor-, Brom- und Jod-Phenylmercaptursäuren befindet sich das Halogen stets in der Parastellung (Baumann u. Preusse, l. c.).

Vor einiger Zeit hat Baumann[2]) beobachtet, dass die Mercaptursäuren mit Permanganat oxydirt werden können, ohne dass Zerfall derselben eintritt, und erkannte, dass diese Oxydationsproducte nichts Anderes als die Sulfone der Mercaptursäuren sind. Der Phenylmercaptursäure entspricht als Sulfon die Phenylsulfonacetamidopropionsäure:

$$CH_3 - C \left\langle \begin{array}{l} S(C_6H_5) \\ \text{————} COOH \\ NH(COCH_3) \end{array} \right. \qquad CH_3 - C \left\langle \begin{array}{l} SO_2 - C_6H_5 \\ \text{————} COOH \\ NH(COCH_3) \end{array} \right.$$

Phenylmercaptursäure. Sulfon der Phenylmercaptursäure = αα-Acetamidophenylsulfonpropionsäure.

Im Folgenden werden die aus den Mercaptursäuren gebildeten Sulfone, welche zu den leicht verseifbaren Sulfonen gehören, beschrieben. Dabei galt es zunächst, die Bedingungen dieser Oxydation, welche nicht so leicht wie bei den meisten anderen Sulfiden sich ausführen lässt, genauer zu ermitteln. Für die Gewinnung der Mercaptursäuren bediente ich mich der von Baumann und Preusse (l. c.) und von Schmitz (l. c.) angegebenen Methoden.

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 8, S. 299.

[2]) D. Chem. Ges., Bd. 18, S. 892.

αα-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure.

$C_{11}H_{12}ClSNO_5$.

Als Oxydationsmittel ist nur verwendbar das Kaliumpermanganat bei gewöhnlicher Temperatur. Lässt man dieses in stark alkalischer Lösung auf eine Mercaptursäure einwirken, so tritt völliger Zerfall ein unter Bildung von Chlorbenzolsulfonsäure. Ebensowenig gelingt eine glatte Oxydation in der neutralen oder schwach sauren Lösung.

Nach mehreren Versuchen wurde ein Verfahren ermittelt, nach welchem eine ziemlich glatte Oxydation erzielt wird. Es ist für den Verlauf derselben von grösster Wichtigkeit, dass die Lösung eine bestimmte geringe Menge von freiem Alkali enthält, stark verdünnt ist und nicht erwärmt wird. Fehlt das freie Alkali, so geht die Reaction nicht zu Ende, während zugleich eine Zersetzung der zuerst gebildeten Producte eintritt.

10 gr. Chlorphenylmercaptursäure wurden in der zur Neutralisation erforderlichen Menge Normalkalilauge (36,5 cbcm.) gelöst, und diese Flüssigkeit durch weiteren Zusatz von 2 cbcm. der Kalilauge schwach alkalisch gemacht. Diese Lösung des Kaliumsalzes wurde sodann auf etwa 2 Liter verdünnt und hierzu in kleinen Portionen von je 10 cbcm. von einer 5procentigen Permanganatlösung so lange hinzugefügt, bis keine Entfärbung mehr eintrat. Dieser Punkt wurde erreicht, nachdem 8 gr. Permanganat verbraucht waren.

Die trübe Flüssigkeit blieb nunmehr einen Tag lang sich selber überlassen, nach welcher Zeit sie sich vollständig entfärbt und geklärt hatte. Nachdem dieselbe vom abgeschiedenen Braunstein durch Filtration getrennt worden war, wurde sie mit verdünnter Schwefelsäure neutralisirt und auf dem Wasserbade bis zur beginnenden Krystallisation eingeengt. Der kaum gelblich gefärbte Rückstand wurde dann mit dem dreifachen Volumen Alkohol aufgenommen, und das sich hierdurch abscheidende schwefelsaure Kali abfiltrirt. Die alkoholische Lösung des Oxydationsproductes wurde sodann abgedunstet, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und mit etwa 10 cbcm. Salzsäure stark angesäuert. Aus der Anfangs

milchig trüben Flüssigkeit schied sich im Laufe eines Tages eine krystallisirende Substanz ab, die durch Filtration von der Mutterlauge getrennt, durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt wurde.

Die Ausbeute an reiner Säure betrug 7,2 gr., also 72 % der angewandten Substanz.

Wie bereits erwähnt, wurden zur Oxydation der 10 gr. Chlorphenylmercaptursäure 8 gr. Permanganat verbraucht. Zieht man in Betracht, dass bei der Oxydation in alkalischer Lösung je 2 Moleküle des Letzteren 3 Atome Sauerstoff abgeben, so berechnet sich die verbrauchte Menge Sauerstoff aus obigen 8 gr. auf 1,2 gr., die von den 10 gr. der Mercaptursäure aufgenommen wurden, da sich ein weiteres Oxydationsproduct nicht nachweisen liess. Verrechnet man dieses auf das Moleculargewicht der Chlorphenylmercaptursäure, so erhält man die Zahl 32,8, oder 1 Molekül der Säure hat 2 Atome Sauerstoff aufgenommen, wofür auch die ausgeführten Analysen sprechen.

Die Verbrennungen zur Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung wurden hier, wie in allen übrigen Fällen, mit chromsaurem Blei, unter Vorlegung einer 10 cm. langen Kupferspirale vorgenommen. Es zeigte sich hierbei häufig ein etwas zu hoher Kohlenstoffgehalt, trotz der grössten angewandten Vorsicht. Wahrscheinlich spielt hier das Halogen eine Rolle, indem sich vielleicht in geringer Menge Halogenwasserstoff bildet, der von der Kalilauge zurückgehalten wird. Ueberhaupt boten sowohl die Verbrennungen, als auch namentlich die Schwefel- und Halogenbestimmungen, wegen der grossen Widerstandsfähigkeit dieser Körper einige Schwierigkeiten. Die Stickstoffbestimmungen wurden nach Dumas ausgeführt. Schwefel und Halogen wurden zu gleicher Zeit nach der Carius'schen Methode bestimmt: Die nicht mehr als 0,2 gr. betragende Menge der Substanz wurde mit 3 cbcm. rauchender Salpetersäure und etwas Silbernitrat in ein Rohr eingeschlossen und einen Tag lang auf 300° erwärmt. Nach dem Abkühlen wurden die entwickelten Gase durch Oeffnen entfernt, und nach wieder erfolgtem Zuschmelzen das Rohr

von Neuem einer Temperatur von 300° ausgesetzt. Nur auf diese Weise konnte man überzeugt sein, dass die Oxydation eine vollkommene war, da die Salpetersäure in der Kälte auf die Substanz überhaupt gar nicht einwirkt. Der Röhreninhalt wurde sodann behutsam ausgespült und, behufs Lösung des sich bildenden schwefelsauren Silbers, mehrere Stunden lang auf dem Wasserbade erhitzt. Hierauf wurde von Halogensilber abfiltrirt und dieses wie gewöhnlich geglüht und gewogen. Im Filtrate wurde zunächst das überschüssige Silbernitrat mit Salzsäure ausgefällt. Nach nochmaliger Filtration wurde die Flüssigkeit zur Entfernung der Salpetersäure zur Trockne verdampft, der aus freier Schwefelsäure bestehende Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit Salzsäure angesäuert und in der Siedehitze mit Chlorbaryum gefällt.

Die auf diese Art ausgeführten Analysen gaben folgende Resultate:

I. 0,209 gr. Substanz ergaben 0,3365 gr. Kohlensäure und 0,0776 gr. Wasser, entsprechend 43,43 % Kohlenstoff und 4,12 % Wasserstoff.

II. 0,278 gr. Substanz lieferten bei 26° C. und 741 mm. Barometerstand 12 cbcm. Stickstoff, entsprechend 4,62 % N.

III. Endlich resultirten aus 0,1904 gr. Substanz 0,0906 gr. Ag Cl und 0,1389 $BaSO_4$, entsprechend 11,77 % Chlor und 10,38 % Schwefel.

Die so gefundenen Werthe stellen sich den von der Theorie für die Formel $C_{11}H_{12}ClSNO_5$ verlangten Procentzahlen gegenüber wie folgt:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_{11}	132	43,21	43,43
H_{12}	12	3,93	4,12
Cl	35,5	11,62	11,77
S	32	10,47	10,38
N	14	4,56	4,62
O_5	80	26,21	—
	305,5	100,00.	

Das Oxydationsproduct enthält somit 2 Atome Sauerstoff mehr, als die entsprechende Mercaptursäure, und ist, wie im Folgenden gezeigt werden wird, das Sulfon der Chlorphenylmercaptursäure. Es kommt ihm daher die Bezeichnung einer $\alpha\alpha$-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure zu.

Die neue Säure unterscheidet sich von dem Ausgangsproduct dadurch, dass sie beim Erwärmen mit Natronlauge kein Mercaptan mehr abspaltet, dessen Anwesenheit man nach Ansäuern und Erwärmen durch Bleipapier erkennt, welches durch Mercaptane gelb gefärbt wird. Welche Producte hierbei aus dem Sulfon entstehen, wird später gezeigt werden.

Wenn bei der Oxydation in der angegebenen Weise verfahren wird, so bilden sich ausser dem obigen Körper keine anderen Producte. Die Ausbeute ist indessen keine quantitative, weil die gebildete Säure durch die zu ihrer Isolirung benutzten starken Mineralsäuren eine theilweise Zersetzung erleidet, und ein anderer, wenn auch nur geringer Theil, in der Mutterlauge bei der Krystallisation verloren geht.

Die α-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure krystallisirt in schönen, oft centimeterlangen, farblosen, dünnen Prismen oder rhombischen Blättchen, die bei 177° unter Kohlensäure und Essigsäureentwickelung schmelzen. Sie löst sich in 45 Theilen heissen, in 700 Theilen kalten Wassers. In Aether, Benzol und Chloroform ist sie unlöslich, schwer löslich in kaltem Alkohol, leicht in heissem. Durch concentrirte Schwefelsäure wird sie beim Erwärmen prachtvoll blau gefärbt. Diese Farbenerscheinung ist fast allen Gliedern dieser Gruppe von Schwefelverbindungen eigen und kann als Erkennungszeichen derselben dienen. Auf Zusatz von Wasser verschwindet die Färbung wieder.

Mit Essigsäureanhydrid entsteht in der Hitze eine intensive Braunfärbung wahrscheinlich unter theilweiser Anhydridbildung. Beim Erwärmen mit Alkalien und Mineralsäuren treten tiefgreifende Zersetzungen ein, die späterhin eine Erörterung erfahren werden.

Salze der αα-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure.

Dieselbe ist eine starke einbasische Säure, deren Alkalisalze sich in Wasser leicht lösen und aus den stark eingedampften Lösungen krystallisiren.

Das Bariumsalz, $(C_{11}H_{11}ClSNO_5)_2Ba + 1^1/_2 H_2O$, wurde durch Neutralisiren der in Wasser gelösten Säure mit Aetzbaryt und Eindampfen erhalten. Es stellt ein weisses Krystallmehl dar, aus verfilzten, mikroskopisch kleinen, oft sternförmig gruppirten Nadeln bestehend, die sich in Wasser leicht lösen und an der Luft verwittern.

Krystallwasserbestimmung.

0,506 gr. des lufttrocknen Salzes verloren bei 105° 0,0179 gr. oder in Procenten 3,5. Auf $1^1/_2$ Molekül Krystallwasser berechnet würde der Verlust 3,45 % betragen.

Barytbestimmung.

0,4462 gr. des wasserfreien Salzes wurden in Wasser gelöst und heiss mit verdünnter Schwefelsäure gefällt. Es resultirten 0,141 gr. $BaSO_4$, entsprechend 18,5 % Barium. Verlangt werden für obige Formel 18,33 % Barium.

Das Silbersalz, $C_{11}H_{11}ClSNO_5Ag$, wurde durch Fällen einer Lösung des neutralen Kaliumsalzes mit ammoniakalischem Silbernitrat als weisser Niederschlag erhalten. Dasselbe ist krystallwasserfrei und besteht aus kleinen, verfilzten Nadeln, die sich am Lichte schwärzen. Dieselben lösen sich leicht in Wasser, Ammoniak und Salpetersäure.

Zur Bestimmung des Silbergehaltes wurde die erwärmte wässerige Lösung mit Salzsäure gefällt.

0,2103 gr. ergaben 0,073 gr. Chlorsilber, entsprechend 26,12 % Silber. Obige Formel verlangt 26,24 % Silber.

Die Salze der Schwermetalle sind in Wasser theilweise löslich, theils unlöslich, meist amorph. Eine 3procentige Lösung des neutralen Kaliumsalzes ergab mit Eisenoxydul- und Oxydsalzlösungen gelbbraune amorphe Niederschläge. Die Blei- und Quecksilbersalze sind weiss und amorph; das Kupfersalz ist von zeisiggrüner Farbe und krystallwasserhaltig.

Aethylester der α-Acetamido-p-chlorphenlsuylfonpropionsäure.

$C_{13}H_{16}ClSNO_5$.

Zur Darstellung des Aethylesters wurden 1,5 gr. der α-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure in überschüssigem absolutem Alkohol gelöst, und in diese Flüssigkeit trockenes Chlorwasserstoffgas bis zur Sättigung eingeleitet. Die mit dem dreifachen Volumen Wasser verdünnte Lösung wurde alsdann mit kohlensaurem Ammon bis zur schwach alkalischen Reaction versetzt. Hierbei schied sich der Ester in kleinen, durchsichtigen, farblosen Nadeln aus. Die von den Krystallen abfiltrirte Lösung gab auf Zusatz von Salzsäure keine Trübung oder Abscheidung der unveränderten Säure. Es war somit die Aetherbildung glatt von Statten gegangen.

Der Aethylester bildet kleine prismatische Nadeln, die bei 165° unter gleichzeitiger Zersetzung schmelzen. Dieselben lösen sich schwer in kaltem Wasser, leicht in Aether, Chloroform und Alkohol. Aus diesen Lösungen scheiden sie sich beim Verdunsten in meist büschelförmig gruppirten Nadeln wieder ab. Eine Analyse ergab folgende Werthe:

I. 0,2068 gr. Substanz lieferten 0,353 gr. Kohlensäure und 0,095 gr. Wasser, entsprechend 46,53 % Kohlenstoff und 5,10 % Wasserstoff.

II. Ferner resultirten aus 0,2248 gr. Substanz 0,0965 gr. AgCl, und 0,1592 gr. $BaSO_4$, entsprechend 10,613 % Cl und 9,73 % S.

Zusammenstellung mit den der Formel $C_{13}H_{16}ClSNO_5$ entsprechenden Zahlen wie folgt:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_{13}	156	46,78	46,53
H_{16}	16	4,80	5,10
Cl	35,5	10,64	10,61
S	32	9,60	9,73
N	14	4,19	—
O_5	80	23,98	—
	333,5	100,00.	

Mit concentrirter Schwefelsäure erwärmt zeigt der Aethylester keine Farbenerscheinung.

Versuche, das Chlorid und das Amid der α-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure auf bekanntem Wege dar-

zustellen, führten zu keinem Resultate. Phosphorpentachlorid wirkt in der Kälte auf die Säure überhaupt nicht ein; beim Erwärmen wird ein Theil der Letzteren weiter zerlegt, ein anderer kann wieder gewonnen werden.

αα-Acetamido-p-bromphenylsulfonpropionsäure.

$C_{11}H_{12}BrNSO_5$.

Da mir ausser der Chlorphenylmercaptursäure auch die entsprechenden Brom- und Jodderivate zur Verfügung standen, schien es mir von Interesse, auch auf Letztere Oxydationsmittel einwirken zu lassen. Es zeigte sich dabei, dass die Bromphenylmercaptursäure sich noch leichter als die Chlorverbindung durch übermangansaures Kalium in das entsprechende Sulfon verwandeln lässt. Bei der Jodphenylmercaptursäure gelingt dieses hingegen nur theilweise, und zwar auch dann nur, wenn man in sehr grosser Verdünnung arbeitet. Ein grosser Theil der Säure wird dabei unter Jodabscheidung zersetzt.

Die Ausbeute betrug bei der Bromverbindung 91 %, bei der Jodverbindung hingegen nur 32 % vom Gewichte der Mercaptursäuren.

Die α-Acetamido-p-bromphenylsulfonpropionsäure bildet, nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser, schöne farblose prismatische Säulen, die sich leicht in heissem, schwer in kaltem Wasser lösen. Sie sind ferner leicht löslich in Alkohol, jedoch kaum in Aether, Chloroform und Benzol.

Dieselben schmelzen bei 170° bis 171°, indem unter Braunfärbung Kohlensäure und Essigsäure entweichen. Beim Erwärmen in concentr. Schwefelsäure tritt eine Blaufärbung ein, die sich durch einen Stich in's Grünliche von der der Chlorverbindung unterscheidet.

Die Analyse ergab folgende Zahlen:

I. 0,2414 gr. Substanz gaben 0,336 gr. CO_2 und 0,0813 gr. H_2O, entsprechend 37,95 % C und 3,74 % H.

II. Ferner lieferten 0,1834 gr. Substanz 0,1203 gr. $BaSO_4$ und 0,0982 gr. AgBr, entsprechend 9,02 % Schwefel und 22,78 % Brom.

III. Endlich gewann man aus 0,224 gr. Substanz bei 13° C. und 733 mm. Barometerstand 7,6 cbcm. Stickstoff, entsprechend 3,85 %.

Zusammenstellung und Vergleichung der gefundenen mit den der Formel $C_{11}H_{12}BrNSO_5$ entsprechenden Procentzahlen:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_{11}	132	37,72	37,95
H_{12}	12	3,43	3,74
Br	80	22,95	22,78
S	32	9,15	9,03
N	13	4,00	3,85
O_5	80	22,85	—
	350	100,00.	

Die α-Acetamido-p-bromphenylsulfonpropionsäure ist in ihren Salzen durchaus ähnlich der gechlorten Verbindung.

Das Bariumsalz, $(C_{11}H_{11}BrSNO_5)_2Ba + 4H_2O$, löst sich leicht in Wasser und Alkohol und krystallisirt aus seiner wässerigen Lösung beim Eindampfen in seidenglänzenden, etwas verfilzten, oft zu Drusen vereinigten Nadeln. Dieselben enthalten 4 Moleküle Krystallwasser.

Krystallwasserbestimmung.

0,3663 gr. Substanz verloren bei 110° 0,029 gr. Wasser, entsprechend 7,92 %. 4 Moleküle Krystallwasser würden 7,93 % ausmachen.

Barytbestimmung.

0,1655 gr. des wasserfreien Salzes ergaben 0,046 gr. $BaSO_4$, entsprechend 16,34 % Barium. Obige Formel verlangt 16,4 % Ba.

Das Silbersalz, $C_{11}H_{11}BrSNO_5Ag$, krystallisirt wasserfrei beim vorsichtigen Eindampfen seiner wässerigen Lösung in kleinen prismatischen Nadeln, die sich in Wasser schwer, leichter in Ammoniak und Salpetersäure lösen.

Silberbestimmung.

0,2445 gr. des Salzes ergaben 0,0765 gr. AgCl, entsprechend 23,55 % Ag. Aus obiger Formel berechnen sich 23,63 % Silber.

αα-Acetamido-p-jodphenylsulfonpropionsäure.

$C_{11}H_{12}JSNO_5$.

Dieselbe ist in Wasser bedeutend leichter löslich, als die entsprechenden anderen Halogenverbindungen, während die

nicht oxydirte jodhaltige Verbindung in Wasser schwerer löslich als die Chlor- und Bromphenylmercaptursäure ist. Sie krystallisirt beim Erkalten der concentr. heissen wässerigen Lösung in zolllangen verfilzten Nadeln, von seidenartigem Glanze. Dieselben schmelzen bei 169—170° unter gleichzeitiger Zersetzung.

Das Jod ist in dieser Säure nur wenig fest gebunden. Bei der Oxydation wird immer ein Theil des Halogens abgespalten; dasselbe erfolgt, wenn man die Säure mit Reductionsmitteln oder concentrirter Schwefelsäure behandelt.

Die Salze entsprechen in der Löslichkeit denen der zuvor beschriebenen Säuren.

Zum Ueberfluss wurde eine Analyse auch von dieser Säure ausgeführt:

I. 0,1916 gr. Substanz lieferten 0,235 gr. CO_2 und 0,0585 gr. H_2O, entsprechend 33,45 % C und 3,392 % H.

II. Ferner ergaben 0,2634 gr. Substanz 0,1531 gr. $BaSO_4$ und 0,1536 gr. AgJ, entsprechend 8,003 % S und 31,61 % Jod.

III. Endlich resultirten aus 0,3015 gr Substanz bei 14° C. und 730 mm. Barometerstand 8,8 cbcm. N = 3,36 % N.

Zusammenstellung der gefundenen mit den der Formel $C_{11}H_{12}SJNO_5$ entsprechenden Werthen:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_{11}	132	33,25	33,45
H_{12}	12	3,02	3,39
J	127	31,99	31,61
S	32	8,06	8,00
N	14	3,53	3,36
O_5	80	20,15	—
	397	100,00.	

αα-Acetamidophenylsulfonpropionsäure.

$C_{11}H_{13}SNO_5$.

Um die Untersuchungen der Mercaptursäuren Oxydationsmitteln gegenüber vollständig zu erschöpfen, schien es mir angebracht, zu ermitteln, ob die halogenfreie Mercaptursäure, welche nach der Angabe von Baumann durch ihre grössere Unbeständigkeit von den halogenhaltigen Säuren sich unterscheidet, auch oxydirt werden kann, und ob man in diesem

Falle das gebildete Sulfon auch durch Reduction der oben beschriebenen halogenisirten Säuren gewinnen könne. Die Versuche haben hierbei durchaus positive Resultate ergeben.

Durch Verfütterung von reinem Benzol gelingt es nicht, wie nach Eingabe von Halogenbenzolen, aus dem Harne eine den Mercaptursäuren entsprechende halogenfreie Säure zu isoliren.

Letztere gewinnt man jedoch leicht nach Angabe von Baumann und Preusse[1]) beim Behandeln von Brommercaptursäure mit Natriumamalgam in der Kälte.

Ich benutzte zur Reduction die Jodverbindung mit der Vorsicht, das gebildete Alkali von Zeit zu Zeit mittelst verdünnter Schwefelsäure abzustumpfen. Die Reduction vollzog sich so in der Kälte zwar sehr langsam und war erst nach acht Tagen beendigt; hingegen war die Ausbeute quantitativ, denn es resultirten aus 10 gr. Jodphenylmercaptursäure 6,2 gr. Phenylmercaptursäure (Schmp. 140°). Die theoretische Ausbeute würde 6,5 gr. betragen.

Die Oxydation wurde wie bei den Halogensubstitutionsproducten ausgeführt, die Ausbeute betrug hierbei 90% der angewandten Substanz.

Die neue Säure krystallisirt aus heissem Wasser in kleinen prismatischen zugespitzten Krystallen, die bei 183° zu einer farblosen Flüssigkeit schmelzen. Bei weiterem Erhitzen tritt Braunfärbung unter Kohlensäure- und Essigsäureentwickelung ein.

Die Säure ist in kaltem Wasser schwer löslich, unlöslich in Aether, Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff. Von kaltem Alkohol wird nur wenig aufgenommen, beim Erwärmen tritt hingegen reichliche Lösung ein. Beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure färbt sich Letztere braunroth.

Die Analysen ergaben folgende Werthe:

I. 0,2024 gr. Substanz lieferten 0,365 gr. CO_2 und 0,09 gr. H_2O, entsprechend 49,18% C und 4,98% H.

II. Ferner ergaben 0,2158 gr. Substanz bei 16,9° C. und 729 mm. Barometerstand 10,4 cbcm. Stickstoff, entsprechend 5,383% N.

III. Endlich resultirten aus 0,1728 gr. Substanz 0,14925 gr. $BaSO_4$, entsprechend 11,9% S.

---

[1]) L. c.

Zusammenstellung der gefundenen Werthe mit den der Formel $C_{11}H_{13}SNO_5$ entsprechenden Procenten:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_{11}	132	48,71	49,18
H_{13}	13	4,8	4,94
S	32	11,8	11,9
N	14	5,17	5,38
O_5	80	29,52	—
	271	100,00.	

Die Alkalisalze sind in Wasser löslich.

Das Bariumsalz, $(C_{11}H_{12}SNO_5)_2Ba + \frac{1}{2}H_2O$, erhält man beim Verdunsten einer wässerigen Lösung in kleinen, mikroskopischen Nadeln, die sich in Wasser und Alkohol leicht lösen.

Analyse:

0,4526 gr. des lufttrockenen Salzes verloren bei 110° 0,0064 gr. Wasser = 1,4%.

0,4462 gr. des wasserfreien Salzes gaben 0,1525 gr. $BaSO_4$ = 20,1% Ba.

	Gefunden:	Berechnet:
Wasser	1,41 %	1,31 %.
Barium	20,1 »	20,23 »

Das Silbersalz, $C_{11}H_{12}SNO_5Ag$, krystallisirt wasserfrei in kleinen Nadeln und ist in Wasser, Ammoniak und Salpetersäure leicht löslich.

Silberbestimmung.

0,2155 gr. Substanz ergaben 0,0816 gr. AgCl, entsprechend 28,5 % Ag.

Obige Formel verlangt 28,57 % Ag.

Die α-Acetamidophenylsulfonpropionsäure kann man ausserdem leicht durch Reduction der entsprechenden halogenisirten Säuren in der Kälte erhalten. Besonders gut eignet sich hierzu die Bromverbindung. Die auf diese Weise erhaltene Säure schmilzt in Uebereinstimmung mit der oben beschriebenen bei 183°.

α-Amido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure.

$C_9H_{10}ClSNO_4$.

Wie schon angedeutet, tritt beim Kochen der α-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure mit Säuren eine Zersetzung ein, welche sich durch das Auftreten von Essigsäure documentirt. Die Reaction verläuft in der Weise, dass sich aus einem Molekül der Säure, unter Aufnahme von einem Molekül Wasser, Essigsäure abspaltet und eine neue Säure sich bildet. Diese Spaltung vollzieht sich beim Kochen mit jeder Mineralsäure; am zweckmässigsten wendet man verdünnte Schwefelsäure an und verfährt in folgender Weise:

6 gr. α-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure werden in einem kleinen Kolben, der mit einem Kühler verbunden ist, mit 38 cbcm. einer, aus 1 Theil Schwefelsäure und 2 Theilen Wasser bestehenden, Mischung in gelindes Kochen gebracht. Nachdem die Substanz sich gelöst hat, setzt man das Kochen noch so lange fort, bis die Flüssigkeit anfängt schwach zu opalisiren. Nach etwa 10 Minuten ist dieser Moment unter reichlicher Gasentwickelung erreicht, während zugleich in der Vorlage eine geringe Menge einer stark nach Essigsäure riechenden Flüssigkeit sich angesammelt hat. Setzt man das Kochen zu lange fort, so tritt eine tiefergehende Zersetzung ein, die durch die Bildung von schwefliger Säure angezeigt wird.

Die durch vorsichtiges Kochen erhaltene gelblich gefärbte, kaum trübe Flüssigkeit lässt man erkalten und verdünnt sie mit dem dreifachen Volumen Wasser, worin sie sich leicht löst. Man neutralisirt nun den grösseren Theil der freien Säure mit Ammoniak und übersättigt schliesslich mit kohlensaurem Ammon. Dabei scheidet sich alsbald das Spaltungsproduct an der Oberfläche als eine weisse voluminöse schaumige Masse ab, welche man absaugt und durch Auswaschen mit kaltem Wasser von anorganischen Beimengungen trennt.

Der so erhaltene neue Körper lässt sich aus heissem Wasser leicht umkrystallisiren und stellt die α-Amido-p-chlor-

phenylsulfonpropionsäure dar, deren Bildung durch folgende Spaltung eintritt:

$$C_{11}H_{12}ClSNO_5 + H_2O = C_9H_{10}ClSNO_4 + C_2H_4O_2.$$

Aus den angewendeten 6 gr. der Acetamidosäure resultirten 5,02 gr. des Spaltungsproductes, während theoretisch 5,16 gr. entstehen müssten. Die Reaction verläuft hiernach quantitativ.

In dem beim Kochen erhaltenen Destillate wurde die gebildete Essigsäure, ausser durch den Geruch und die Eisenreaction, durch die Bildung des Silbersalzes nachgewiesen.

0,252 gr. des aus dem Destillat erhaltenen Silbersalzes gaben beim Glühen 0,1626 gr. Silber = 64,56 % Ag, essigsaures Silber verlangt 64,66 % Ag.

Die Analyse der neuen Säure ergab folgende Zahlen:

I. 0,233 gr. Substanz lieferten 0,347 gr. CO_2 und 0,08 gr. H_2O, entsprechend 40,51 % C und 3,809 % H.

II. Ferner ergaben 0,1654 gr. Substanz 0,0888 gr. AgCl und 0,1465 gr. $BaSO_4$, entsprechend 13,27 % Cl und 12,17 % S.

III. Endlich resultirten aus 0.2349 gr. Substanz bei 13° C. und 729 mm. Barometerstand 10,8 cbcm. Stickstoff = 5,13 % N.

Zusammenstellung der gefundenen mit den für die Formel $C_9H_{10}SClNO_4$ berechneten Werthen:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_9	108	40,98	40,56
H_{10}	10	3,80	3,81
S	32	12,16	12,17
Cl	35,5	13,45	13.27
N	14	5,32	5,13
O_4	64	24,28	—
	263,5	100,00.	

Die α-Amido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure bildet kleine Prismen, oder, aus heissem Wasser umkrystallisirt, kleine rautenförmige Blättchen mit oft abgestumpften Ecken. Dieselben sind sehr leicht, von perlmutterähnlichem Glanze und fühlen sich trocken etwas fettig an. Sie lösen sich in heissem Wasser reichlich, aber sehr langsam, da sie nur schwierig vom Wasser benetzt werden. In kaltem Wasser

sind sie wenig, nämlich erst in 1400 Theilen löslich. In Weingeist, selbst in kochendem, tritt keine Lösung ein, ebensowenig in Aether, Chloroform und Benzol. Sie schmelzen bei 156°. Es tritt hierbei eine Zersetzung ein, indem zunächst Kohlensäure, hierauf Ammoniak entweichen.

Das erhaltene Spaltungsproduct zeigt als Amidosäure sowohl saure als basische Eigenschaften. Es löst sich daher leicht in conc. Schwefelsäure, welche Lösung beim Erwärmen sich violett färbt. In conc. Salzsäure ist es beim Erwärmen leicht löslich. Lässt man diese Lösung langsam erkalten, so krystallisirt die salzsaure Verbindung in mehr als zolllangen, feinen, büschelförmig gruppirten, seidenartigen Nadeln aus. Dieses Salz ist jedoch wenig beständig, denn schon beim Lösen in Wasser wird die Salzsäure wieder abgespalten.

In fixen Alkalien und Ammoniak ist die Amidosäure leicht löslich, erleidet aber beim Erwärmen eine tiefgreifende Zersetzung unter Ammoniakentwickelung. Die ammoniakalische Lösung gibt nach Verjagung des überschüssigen Alkalis mit essigsaurem Kupfer einen hellblauen Niederschlag, der sich in Ammoniak löst und die Zusammensetzung $(C_9H_9ClSNO_4)_2Cu$ besitzt.

Die übrigen halogenphenylsulfonirten Säuren, sowie die halogenfreie Säure verhalten sich Mineralsäuren gegenüber ganz analog der α-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure. Die α-Amidophenylsulfonpropionsäure unterscheidet sich von den übrigen durch ihre leichte Löslichkeit in Wasser. Dieselbe krystallisirt nur schwierig in kleinen Nadeln, die nur unrein erhalten wurden.

Die αα-Amido-p-bromphenylsulfonpropionsäure,

$C_9H_{10}BrSNO_4$,

krystallisirt wie die entsprechende Chlorverbindung, mit der sie auch in ihrem Verhalten vollständig übereinstimmt. Ein Unterschied besteht in ihrer Eigenschaft, conc. Schwefelsäure beim Erwärmen röthlichbraun zu färben. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 163—164°.

Die Analyse ergab folgende Werthe:

I. 0,2124 gr. Substanz lieferten 0,069 gr. H_2O und 0,2754 gr. CO_2, entsprechend 3,61 % H und 35,31 % C.

II. 0,2502 gr. Substanz ergaben bei 18,2° C. und 731 mm. Barometerstand 11 cbcm. Stickstoff = 4,86 % N.

III. Endlich resultirten aus 0,1706 gr. Substanz 0,1036 gr. AgBr und 0,1278 $BaSO_4$, entsprechend 25,84 % Brom und 10,30 % Schwefel.

Zusammenstellung der gefundenen mit den der Formel $C_9H_{10}SNBrO_4$ entsprechenden Zahlen:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_9	108	35,06	35,31
H_{10}	10	3,25	3,61
S	32	10,39	10,30
N	14	4,55	4,86
Br	80	25,97	25,84
O_4	64	20,78	—
	308	100,00.	

Zurückbildung der Acetamidosäure aus der Amidosäure.

Lässt man Essigsäureanhydrid auf eine der obigen Amidosäuren einwirken, so tritt beim Erwärmen unter Braunfärbung Zersetzung ein. In mässiger Verdünnung mit Benzol gelang es jedoch, nach mehreren vergeblichen Versuchen, die Acetylverbindung auf folgendem Wege nach der Methode von Curtius[1]) zu erhalten.

$^1/_2$ gr. α-Amido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure wurde mit 10 gr. Benzol und 3 gr. Essigsäureanhydrid in einem Kölbchen mit Rückflusskühler eine Stunde lang auf dem Wasserbade erwärmt. Die Flüssigkeit nahm hierbei eine etwas gelbliche Färbung an, während scheinbar die suspendirte Substanz keine Veränderung erlitten hatte. Nach dem Abfiltriren der Letzteren und schwachem Erwärmen, behufs Befreiung von anhaftendem Benzol, zeigte dieselbe jedoch, zum Unterschiede von der Amidosäure, stark saure Eigenschaften und löste sich daher leicht in kohlensaurem Natron. Aus dieser Lösung erhielt man beim Ansäuren mit Salzsäure

[1]) Vergl. Curtius, D. chem. Ges., Bd. 16, S. 654.

einen geringen Niederschlag, der jedoch genügte, um, nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser, die zurückgebildete α-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure wieder erkennen zu lassen. Der Schmelzpunkt lag in Uebereinstimmung mit dem der Letzteren bei 177°.

Uramido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure.

$$CO\begin{matrix} \diagup NH\,C_9H_8ClSO_4 \\ \diagdown NH_2. \end{matrix}$$

Als Amidosäure ist die Amido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure, sowie die ihr entsprechenden anderen halogenhaltigen und halogenfreien Verbindungen geeignet, analog der Bildung der Hydantoinsäure aus Glycocoll, durch Addition von Isocyansäure, einen zusammengesetzten Harnstoff zu bilden. Diese Anlagerung erfolgt dabei gemäss folgender Gleichung:

$$C_9H_{10}ClSNO_4 + KCNO = CO\begin{matrix} \diagup NH\,C_9H_7KClSO_4 \\ \diagdown NH_2. \end{matrix}$$

Der Process wurde auf folgende Art eingeleitet:

1 gr. der Amidosäure wurde in 20 cbcm. Wasser vertheilt und mit 4 gr. cyansaurem Kali mässig erwärmt. Es trat alsbald Lösung ein unter Gelbfärbung der Flüssigkeit. Nachdem man sich durch Zusatz von Essigsäure zu einer geringen Probe durch Klarbleiben derselben überzeugt hatte, dass keine unzersetzte Amidosäure mehr vorhanden, wurde die gesammte Flüssigkeit mit Salzsäure stark angesäuert und sich selbst überlassen.

Nach einiger Zeit schied sich die gebildete Uramidosäure in weisslichen Flocken ab. Dieselben wurden abfiltrirt und durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt.

Die erhaltene Säure bildet prismatische, oft sternförmig gruppirte kleine Nadeln, die bei 173° bis 174° unter gleichzeitiger Zersetzung schmelzen. Dieselben lösen sich kaum in kaltem, hingegen leicht in heissem Wasser und Alkohol. In

Aether und Chloroform sind sie unlöslich. Mit concentrirter Schwefelsäure erwärmt ertheilen sie derselben eine prachtvolle Blaufärbung.

Von concentrirter Salpetersäure werden sie in der Kälte stürmisch oxydirt, im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Sulfonen, die nur gelöst werden und beim Verdünnen mit Wasser als solche wieder ausfallen.

Die Analyse ergab folgende Werthe:

I. 0,2418 gr. Substanz lieferten bei 12° C. und 743,5 mm. Barometerstand 19,2 cbcm. Stickstoff, gleich 9,22 % N.

II. Ferner resultirten aus 0,1834 gr. Substanz 0,2695 gr. CO_2 und 0,0605 gr. H_2O, entsprechend 39,16 % C und 3,66 % H.

III. Endlich ergaben weitere 0,1535 gr. Substanz 0,1152 gr. $BaSO_4$ und 0,0708 gr. AgCl, entsprechend 10,31 % S und 11,40 % Cl.

Zusammenstellung der gefundenen mit den der Formel $C_{10}H_{11}N_2SClO_5$ entsprechenden Zahlen:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_{10}	120	39,15	39,16
H_{11}	11	3,59	3,66
N_2	28	9,15	9,22
S	32	10,45	10,31
Cl	35,5	11,59	11,40
O_5	80	26,07	—
	306,5	100,00.	

Behandelt man die α-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure auf ähnliche Weise mit cyansaurem Kali, so erhält man keine Uramidoverbindung, vielmehr fällt auf Zusatz von Salzsäure die unveränderte Säure wieder aus. Es ist diese Thatsache geeignet, die Stelle der Acetyl- und Amidgruppe im Molekül zu erläutern, indem nur diejenigen Amidosäuren, die die Amidgruppe als solche oder alkylirt enthalten, Uramidosäuren zu bilden im Stande sind, während aus Amidosäuren, in denen ein Säureradical ein Wasserstoffatom der Amidgruppe substituirt hat, mit Kaliumcyanat keine Uramidosäuren entstehen.

Spaltung durch Alkalien.

Kocht man die α-Acetamido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure, oder die durch Abspaltung der Acetylgruppe erhaltene

Amidosäure, mit fixen Alkalien, so tritt eine vollständige Zersetzung ein, indem der gesammte Stickstoff in Form von Ammoniak entweicht und das ganze Molekül in seine näheren Componenten zerfällt. Es entstehen hierbei aus der Amidosäure:

Ammoniak, Brenztraubensäure und p-Chlorbenzolsulfinsäure, bei der Acetamidosäure ausser diesen noch Essigsäure.

Zum Nachweis der Spaltungsproducte wurde in folgender Weise verfahren:

Amidochlorphenylsulfonpropionsäure wurde in einem kleinen langhalsigen Kolben mit der zehnfachen Menge Kalilauge von 1,2 spec. Gewicht und der zwanzigfachen Menge Wasser in gelindem Kochen erhalten. Die Anfangs farblose Flüssigkeit färbte sich alsbald gelblich, während Ammoniak unter starkem Aufschäumen in reichlicher Menge entwich. Im Rückstande blieben die Sulfinsäure und die Brenztraubensäure.

Nachweis des Ammoniaks.

Bei einem erneuten Spaltungsversuch wurde aus 1 gr. der Substanz die Menge des gebildeten Ammoniaks genau bestimmt, und zwar derart, dass der Kolben mit einem Kühler verbunden wurde, und so lange destillirt wurde, als noch Ammoniak überging. Letzteres wurde in einer Vorlage von Normalschwefelsäure aufgefangen und der Ueberschuss derselben zurücktitrirt. Es waren auf diese Weise 3,1 cbcm. Schwefelsäure durch das gebildete Ammoniak neutralisirt worden, was einem Gehalte von 0,0527 gr. NH_3 entspricht. Der Theorie nach müssten aus 1 gr. obiger Amidosäure 0,055 gr. NH_3 abgespalten werden.

Nachweis der Sulfinsäure.

Um die gebildete Sulfinsäure unter den Spaltungsproducten nachzuweisen, ist es nothwendig, die Einwirkung des Alkalis zu unterbrechen, sobald starkes Aufschäumen eintritt, was nach 5 bis 10 Minuten langem Kochen der Fall ist. Versetzt man jetzt die erkaltete Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure im Ueberschuss, so bewirkt dieselbe zunächst nur eine

milchige Trübung. Bei längerem Stehen scheiden sich dann allmälig kleine Krystalle ab. Dieselben lassen sich leicht aus heissem Wasser umkrystallisiren und schmelzen bei 90°.

Eine Analyse liess folgende Werthe finden:

0,1788 gr. Substanz ergaben 0,266 gr. CO_2 und 0,046 gr. H_2O, entsprechend 40,6 % C und 2,84 % H.

Die erhaltenen Krystalle sind somit identisch mit der von Otto und Brummer[1]) aus dem Chlorid der p-Chlorbenzolsulfonsäure mittelst Natriumamalgam dargestellten p-Chlorbenzolsulfinsäure, von der Zusammensetzung $C_6H_5ClSO_2$.

	Gefunden %:	Berechnet %:
C	40,6	40,8
H	2,84	2,82.

Es ist bemerkenswerth, dass bei dieser Spaltung nur die Parachlorbenzolsulfinsäure ensteht, obschon die Mercaptursäure, von der ich ausging, nicht besonders gereinigt war. Es ist dieses somit ein weiterer Beweis dafür, dass im vorliegenden Falle im Organismus immer die Parabindung eintritt [2]).

Die anderen halogenisirten Amidosäuren verhalten sich der Chlorverbindung analog. Da die p-Brombenzolsulfinsäure noch nicht beschrieben ist, mag eine kurze Schilderung derselben hier am Platze sein.

Die p-Brombenzolsulfinsäure

krystallisirt aus der heissen wässerigen Lösung bei langsamen Erkalten in fast zolllangen, prismatischen Nadeln, die oft sternförmig gruppirt sind. Dieselben schmelzen bei 103° zu einer farblosen Flüssigkeit, die sich bei weiterem Erhitzen bald zersetzt.

Die Analyse ergab folgende Werthe:

0,210 gr. Substanz lieferten 0,2494 gr. CO_2 und 0,0475 gr. H_2O, entsprechend 32,4 % C und 2,51 % H.

Ferner ergaben 0,2133 gr. Substanz 0,1803 gr. AgBr und 0,2236 $BaSO_4$, entsprechend 35,98 % Brom und 14,42 % Schwefel.

---

[1]) Annal. d. Chem., Bd. 143, S. 113.

[2]) Vergl. Baumann. diese Zeitschr., Bd. 5, S. 388.

Zusammenstellung der gefundenen mit den der Formel $C_6H_5BrSO_2$ entsprechenden Zahlen:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_6	72	32,57	32,4
H_5	5	2,27	2,51
Br	80	36,19	35,98
S	32	14,48	14,42
O_2	32	14,48	—
	221	100,00.	

Die p-Brombenzolsulfinsäure ertheilt beim Erwärmen mit Schwefelsäure Letzterer eine blaue Farbe. Sie löst sich leicht in heissem Wasser, Aether und Alkohol, schwer in kaltem Wasser. Ihre Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich. Das Bleisalz ist weiss und unlöslich. An trockener Luft ist sie beständig, in Berührung mit Wasser, namentlich leicht bei Gegenwart von Salzsäure, zerfällt sie in Brombenzolsulfonsäure $C_6H_4BrSO_3$ und Brombenzoldisulfoxyd $C_6H_4BrSO_2S \cdot C_6H_4Br$. Beim Vermischen der wässerigen Lösung eines ihrer Salze mit Phenylhydrazin und conc. Salzsäure tritt nach erfolgtem Erwärmen eine krystallinische Fällung ein. Diese Reaction ist, wie Escales[1]) gezeigt hat, allen Sulfinsäuren eigen. In unserem Falle besteht der Niederschlag aus Brombenzoldisulfoxyd und einer Verbindung von Brombenzolsulfosäure mit Phenylhydrazin, dem Phenylbrombenzolsulfazid von der Zusammensetzung $C_6H_4BrSO_2NH — NHC_6H_5$.

Nachweis der Brenztraubensäure.

Als weiteres Spaltungsproduct wurde die Brenztraubensäure erkannt. Dieselbe befindet sich in dem Filtrate der Sulfinsäure, wenn man das Kochen mit Alkalien nicht zu lange fortgesetzt hat. In letzterem Falle findet durch Einwirkung des Alkalis eine weitere Zersetzung der gebildeten Brenztraubensäure zu Oxalsäure und Uvitinsäure[2]) statt.

Zum Nachweis der Brenztraubensäure wurde die zuerst von E. Fischer[3]) beschriebene charakteristische Phenyl-

[1]) D. chem. Ges., Bd. 18, S. 894.
[2]) Vergl. Baumann, diese Zeitschr., Bd. 5, S. 323.
[3]) D. chem. Ges., Bd. 16, S. 2241.

hydrazinverbindung benutzt. Auf Zusatz von salzsaurem Phenylhydrazin entstand eine reichliche Abscheidung der Phenylhydrazonbrenztraubensäure, welche abfiltrirt und, durch wiederholtes Umkrystallisiren aus heissem Wasser, in farblosen, fast zolllangen Krystallen erhalten wurde. Dieselben waren in heissem Wasser schwer löslich, unlöslich in kaltem. Ihr Schmelzpunkt lag in Uebereinstimmung mit dem der von Fischer aus reiner Brenztraubensäure dargestellten Verbindung bei 192—193°.

Eine Analyse ergab folgende Werthe:

0,241 gr. Substanz ergaben 0,537 gr. CO_2 und 0,115 gr. H_2O, entsprechend 60,8 % C und 5,31 % H.

	Gefunden %:	Berechnet %:
C	60,80	61,02,
H	5,31	5,08.

Die im Vorstehenden beschriebene Spaltung der α-Amido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure erfolgt somit nach folgender Gleichung:

$$C_9H_{10}ClSNO_4 + H_2O = C_3H_4O_3 + C_6H_5ClSO_2 + NH_3.$$

Die Zersetzung verläuft dabei quantitativ.

Die Constitution der α-Acetamido- und die der Amidoverbindungen ist somit klar gelegt und durch folgende Formel auszudrücken:

I. α-Acetamido-p-chlor(BrJ)phenylsulfonpropionsäure:

$$\frac{CH_3}{COOH} > C < \frac{NH - COCH_3}{SO_2C_6H_4Cl(BrJ).}$$

II. α-Amido-p-chlorphenylsulfonpropionsäure:

$$\frac{CH_3}{COOH} > C < \frac{NH_2}{SO_2C_6H_4Cl(BrJ).}$$

Die von mir dargestellten Körper stellen also sulfonirte Amidosäuren dar, deren Constitution und Spaltung derjenigen der Mercaptursäuren entspricht.

Die Abspaltbarkeit der Phenylsulfongruppe ist offenbar durch den Umstand bedingt, dass sich neben dieser

Gruppe am gleichen Kohlenstoffatom eine Amidgruppe befindet[1]).

Diese Gegenwart der Amidgruppe beeinflusst die Eigenschaften der Mercaptursäuren und ihrer Abkömmlinge auch noch in anderer Weise.

Während die Mercaptursäuren selbst, wie gezeigt, leicht zu Sulfonen oxydirt werden können, gelingt diese Oxydation nicht mehr nach Abspaltung des Acetylrestes aus den Mercaptursäuren. Versucht man den Körper von der Zusammensetzung

$$\begin{matrix} CH_3 \\ COOH \end{matrix} > C < \begin{matrix} NH_2 \\ SC_6H_5 \end{matrix}$$

zu oxydiren, so erhält man kein Sulfon, sondern immer vollkommene Zersetzung.

---

p-Chlorphenylsulfonoxypropionsäure.

$C_9H_9ClSO_5$.

Es schien mir von besonderem Interesse, zu ermitteln, ob auch Körper existiren können, welche eine Sulfogruppe neben einer Hydroxylgruppe am gleichen Kohlenstoffatom gebunden enthalten. Bei den Sulfosäuren sind derartige Bindungen bekannt, insofern sich mehrere Sulfonsäuren des Methylalkohols darstellen lassen.

Ein Körper, welcher eine Sulfon- und Hydroxylgruppe an zwei benachbarten Kohlenstoffatomen enthält, ist bereits in dem von Otto und Damköhler[2]) beim Spalten des Aethylendiphenylsulfons sich bildenden Phenylsulfonäthylalkohols bekannt, der folgende Zusammensetzung hat:

$$\begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ CH_2SO_2C_6H_5. \end{matrix}$$

Um die angeregte Frage zu entscheiden, wurde zunächst versucht, die Amidgruppe der Amidochlorphenylsulfonpropionsäure auf gewöhnlichem Wege durch die Hydroxylgruppe zu substituiren. Dabei ergaben sich jedoch verschiedene Schwierigkeiten.

---

[1]) Vergl. Ueber verseifbare Sulfone, Stuffer, D. chem. Ges., Bd. 23, S. 1408 und 3226; Baumann, ebend., Bd. 24, S. 2272.

[2]) Journ. f. pr. Chemie, N. F., Bd. 30, S. 171 und 321.

Es wurde zwar schon im ersten Versuche ermittelt, dass salpetrige Säure unter Stickstoffentwickelung auf die Amidochlorphenylsulfonpropionsäure einwirkt, allein das Product dieser Reaction ist sehr veränderlich, so dass man leicht Gemenge erhält, die nur mit grossem Verluste weiter gereinigt werden können.

Nach mehreren vergeblichen Versuchen ergab schliesslich folgendes Verfahren den besten Weg, zu der gesuchten Substanz zu gelangen.

2 gr. obiger phenylsulfonirten Amidosäure wurden durch Erwärmen in 20 cbcm. Normalschwefelsäure und 200 cbcm. Wasser gelöst. Dieser warmen Flüssigkeit wurde eine Auflösung von 0,8 gr. Natriumnitrit in 20 cbcm. Wasser allmälig hinzugefügt. Es trat sogleich eine reichliche Stickstoffentwickelung ein, die nach Verlauf von einer Stunde beendigt schien. Die nach dem Erkalten nunmehr klare Flüssigkeit liess schon erkennen, dass die schwer lösliche Amidosäure in eine leichter lösliche Verbindung übergegangen war. Hierauf wurde mit Aether ausgeschüttelt, in dem sich das Ausgangsproduct nicht löst. Beim Verdunsten desselben hinterblieb ein weisser, etwas krystallinischer, harzähnlicher Körper, aus dem man nur schwierig und mit grossem Substanzverlust durch Behandeln mit wasserfreiem Aether eine reine sticktofffreie Säure isoliren konnte.

Analyse:

I, 0,203 gr. Substanz ergaben 0,3055 gr. CO_2 und 0,0695 gr. H_2O, entsprechend 40,96 % C und 3,79 % H.

II. Ferner resultirten aus 0,1209 gr. Substanz 0,066 gr. AgCl und 0,108 gr. $BaSO_4$, entsprechend 13,5 % Cl und 12,28 % S.

Zusammenstellung der gefundenen mit den der Formel $C_9H_9ClSO_5$ entsprechenden Zahlen:

		Berechnet %:	Gefunden %:
C_9	108	40,83	40,96
H_9	9	3,40	3,79
Cl	35,5	13,43	13,5
S	32	12,09	12,28
O_5	80	30,25	—
	264,5	100,00.	

Die Constitution der neuen Säure ist somit:

$$\begin{matrix} CH_3 \\ COOH \end{matrix} > C < \begin{matrix} OH \\ SO_2C_6H_4Cl. \end{matrix}$$

Die p-Chlorphenylsulfonoxypropionsäure ist in Wasser, Alkohol und Aether löslich und krystallisirt nur schwer in kleinen farblosen, meist sternförmig gruppirten Prismen. Sie schmilzt bei 155—156° unter gleichzeitiger Zersetzung. Mit concentrirter Schwefelsäure erwärmt färbt sie sich zum Unterschiede von der Amidosäure braun. Sie ist eine starke Säure, die sich in Alkalien leicht löst. Ihre Salze sind in Wasser leicht löslich und krystallisiren nicht leicht.

Beim Kochen der p-Chlorphenylsulfonoxypropionsäure mit Alkalien wird keine Sulfinsäure abgespalten, vielmehr scheidet sich nach dem Uebersättigen mit Salzsäure eine neue Säure ab, welche durch Anhydridbildung aus obiger entstanden ist.

Die Analyse ergab folgende Zahlen, welche für die Formel $C_{18}H_{16}Cl_2S_2O_9$ stimmen:

0,2115 gr. Substanz lieferten 0,3165 gr. CO_2 und 0,072 gr. H_2O, entsprechend 42,23 % C und 3,7 % H.

	Berechnet %:	Gefunden %:
C	42,26	42,22
H	3,33	3,7

Die Constitution der neuen Säure ist somit folgende:

$$\begin{matrix} CH_3 \\ COOH \end{matrix} > C \left\langle \begin{matrix} SO_2C_6H_4Cl \\ \\ O \\ \\ SO_2C_6H_4Cl. \end{matrix} \right. \quad \begin{matrix} COOH \\ CH_3 \end{matrix} > C$$

Es erfolgt also hier unter der Einwirkung starker Alkalien eine Wasserabspaltung ganz ähnlich derjenigen, welche Baumann[1]) bei einer anderen, diesem Körper sehr nahe stehenden Verbindung beobachtet hat, nämlich bei der Thiophenyloxypropionsäure, welche bei der Einwirkung von den

---

[1]) Ber. d. D. chem. Ges., Bd. 18, S. 266.

verschiedensten Agentien ein ähnliches Anhydrid, die Dithiophenyldilactylsäure, bildet. Der Process entspricht folgender Gleichung:

$$2\left[\begin{matrix} CH_3 \\ COOH \end{matrix} > C < \begin{matrix} OH \\ SC_6H_5 \end{matrix}\right] = \begin{matrix} \begin{matrix} CO_3 \\ COOH \end{matrix} > C \begin{matrix} \diagup SC_6H_5 \\ \diagdown \end{matrix} \\ \qquad\qquad O \\ \begin{matrix} COOH \\ CH_3 \end{matrix} > C \begin{matrix} \diagup \\ \diagdown SC_6H_5 \end{matrix} \end{matrix} + H_2O.$$

Der von mir erhaltene Körper, dessen Schmelzpunkt bei 153° liegt, stellt somit das Disulfon der von Baumann dargestellten Verbindung dar.

Es lag nahe, den letztgenannten Körper zur künstlichen Darstellung des von mir gewonnenen Productes durch Oxydation zu benutzen. Ich stellte daher die Dithiophenyldilactylsäure dar und behandelte dieselbe mit Kaliumpermanganat. Dabei zeigte sich aber, dass die Oxydation sehr langsam und unvollständig eintritt und jedesmal vom völligen Zerfall der Substanz begleitet ist. Ein Theil der angewandten Säure wurde durch Ausschütteln der angesäuerten Oxydationsmischung mit Aether wieder gewonnen.

Zur Kenntniss des Cystins und des Cystëins.

Von

Karl Brenzinger.

(Mitgetheilt von E. Baumann.)

(Der Redaction zugegangen am 25. April 1892.)

Das Cystin wurde im Jahre 1810 von Wollaston in Blasensteinen, welche fast ganz aus Cystin bestanden, entdeckt. Als eine schwefelhaltige Substanz ist es von Baudrimont und Malegati (Journal de Pharm., t. 24, p. 663) erkannt worden. Ueber die Zusammensetzung des Cystins gingen die Ansichten der Chemiker lange Zeit auseinander. Prout (Gmelin, Handbuch der org. Chemie, Bd. 5, S. 133) war der Erste, der eine Analyse des Cystins ausführte, dabei jedoch den Schwefelgehalt desselben übersehen hatte, welcher, wie schon erwähnt, von Baudrimont und Malegati (loc. citato) nachgewiesen worden ist.

Thaulow (Annal. der Chemie u. Pharm., Bd. 27, S. 197) führte eine vollständige Analyse des Cystins aus, und stellte auf Grund der erhaltenen Werthe die Formel $C_3H_6NSO_2$ auf. Diese Formel wurde von Gmelin (Lehrbuch der org. Chemie, 4. Auflage, Bd. 5, S. 133) wegen der unpaaren Atomzahl verworfen und durch $C_3H_7NSO_2$ ersetzt.

Cramer (Jahresberichte 1865, S. 654) betrachtete das Cystin als dem Serin analog zusammengesetzt und sprach sich für die letztgenannte Formel aus. Dagegen kamen Dewar und Gamgee zu dem Schlusse, dass die Zusammensetzung des Cystins $C_3H_5NSO_2$ sei (Journ. of Anat. and Phys., Bd. 7, S. 142). Dieselben Autoren geben an, dass bei der

Einwirkung von salpetriger Säure auf das Cystin Brenztraubensäure gebildet würde und betrachteten desshalb das Cystin als β-Amidothiobrenztraubensäure, $CH_2(NH_2) - CS - COOH$.

Hoppe-Seyler (diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 330) zeigte aber, dass das Cystin bei der Einwirkung von Alkalien den Stickstoff in Form von Ammoniak völlig abgibt und dabei kein Methylamin, wie nach der Formal von Dewar und Gamgee zu erwarten wäre, liefert. Aus eigenen Analysen des Cystins schloss Hoppe-Seyler, dass die Cystinformel von Dewar und Gamgee unrichtig sei und entschied sich für die ältere Formel $C_3H_7NSO_2$, obwohl seine für Wasserstoff gefundenen Werthe etwas zu niedrig ausgefallen waren.

Bald nachher zeigte Külz auf Grund eigener Analysen und solcher, welche von Laubenheimer und von Tollens (Zeitschrift für Biologie, Bd. 20, S. 6) ausgeführt worden waren, dass nur die von Thaulow aufgestellte Cystinformel $C_3H_6NSO_2$ mit den analytischen Werthen in gutem Einklange stehe, dass dieselbe jedoch wegen der unpaaren Zahl der ungeradwerthigen Elemente zu verdoppeln sei. Neuerdings ist es Külz gelungen, die Bildung des Cystins bei der Pankreasverdauung nachzuweisen[1]).

Auf einem ganz anderen Wege als dem der Analyse fand Baumann, dass dem Cystin die von Külz aufgestellte Formel $C_6H_{12}S_2N_2O_4$ in der That zukommt, indem er zeigte, dass das Cystin das Disulfid eines mercaptanartigen Körpers des Cystëins ist, welches die Formel $C_3H_7NSO_2$ besitzt. Baumann (diese Zeitschrift, Bd. 8, S. 300) zeigte, dass das Cystin leicht durch Einwirkung von nascirendem Wasserstoff in Cystëin umgewandelt wird, und dass Letzteres durch Oxydation an der Luft und durch schwache Oxydationsmittel, wie Eisenchlorid in Cystin zurückverwandelt wird, d. h. dass das Cystin das Disulfid des Cystëins darstellt, wie aus folgenden Formeln ersichtlich ist:

$C_3H_6NO_2 - SH$
Cystëin

$$\begin{array}{l} C_3H_6NO_2 - S \\ \qquad\qquad\quad | \\ C_3H_6NO_2 - S \end{array}$$
Cystin.

[1]) Zeitschr. f. Biol., Bd. 27, S. 415.

Ueber die Constitution des Cystins und des Cystëins waren von Baumann und Preusse (diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 328) schon früher auf indirectem Wege Schlüsse gezogen worden aus der Untersuchung eigenartiger Stoffwechselproducte, welche sie nach Fütterung von Halogenbenzolen aus dem Harne von Hunden gewonnen hatten. Diese Körper sind die sog. Mercaptursäuren, durch deren Untersuchung die genannten Autoren ermittelten, dass sie zum Cystin nicht nur in einer nahen Beziehung ständen, sondern als Substitutionsproducte derselben aufzufassen seien.

Die Mercaptursäuren sind aus dem Harne der Hunde nach Verfütterung von Chlor-, Brom- oder Jod-Benzol erhalten worden. Obwohl es bis jetzt nicht gelungen ist, die Synthesen dieser Körper auszuführen, so ist doch ihre Constitution in unzweifelhafter Weise durch Baumann und Preusse (diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 309 ff.), durch Schmitz (Inaugural-Dissertation, Freiburg 1886) und durch König (s. vorstehende Abhandlung) festgestellt worden.

Die Bromphenylmercaptursäure, welche nach Eingabe von Brom-Benzol im Hundeharn auftritt und die Formel $C_{11}H_{12}NSBrO_3$ besitzt, wird durch starke Säuren in Essigsäure und einen Körper $C_9H_{10}BrNSO_2$ gespalten, welcher seinerseits ein Bromphenylsubstitutionsproduct des Cystëins $(C_6H_4Br)S - C_3H_6NO_2$ darstellt. Die Constitution dieses Körpers wurde aus seiner Zersetzung durch Alkalien, welche im Sinne folgender Gleichung verläuft, abgeleitet:

$$C_9H_{10}BrNSO_2 + H_2O = \underset{\text{p-Bromphenyl-mercaptan}}{C_6H_4BrSH} + NH_3 + \underset{\text{Brenztraubensäure.}}{CH_3CO - COOH.}$$

Diese Zersetzung ist nur verständlich, wenn dem Bromphenylcystëin die Formel

$$\begin{matrix} CH_3 \\ C_6H_4BrS \end{matrix} > C < \begin{matrix} NH_2 \\ COOH \end{matrix}$$

zugeschrieben wird, nach welcher es als α-Amidothiobromphenylpropionsäure zu bezeichnen ist. Aus dieser Amidosäure kann durch Einwirkung von Essigsäureanhydrid ein Acetylderivat gewonnen werden, welches durchaus identisch ist mit

der ursprünglichen Mercaptursäure, und welcher demnach die Formel

$$\frac{CH_3}{C_6H_4BrS} > C < \frac{NH - COCH_3}{COOH}$$

zukommt.

Den wichtigsten Punkt der Beweisführung von Baumann und Preusse bildet der Nachweis der Brenztraubensäure, welchem desshalb eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet worden ist. Da die Brenztraubensäure bei der Einwirkung von Alkalien in der Wärme schnell weiter verändert wird, konnten zunächst nur Umwandlungsproducte derselben, Oxalsäure und Uvitinsäure, nachgewiesen werden. Statt der Brenztraubensäure wurde, wenn die Spaltung des Bromphenylcystëins in der Wärme bei Gegenwart von Natriumamalgam bewirkt wurde, das Reductionsproduct der Brenztraubensäure, die Gährungsmilchsäure erhalten (Baumann und Preusse, loc. cit.). Später, nachdem die ungemein empfindliche Phenylhydrazinreaction der Brenztraubensäure von Emil Fischer entdeckt war, gelang es auch, die Phenylhydrazonbrenztraubensäure unmittelbar aus den Spaltungsproducten der Mercaptursäuren abzuscheiden, wodurch der directe Nachweis der Brenztraubensäure geführt wurde (Schmitz, Inaugural-Dissertation, Ueber Jodphenylmercaptursäure, Freiburg 1886).

Bei der Vergleichung des Verhaltens des Cystins und der aus den Mercaptursäuren gewonnenen Producte zeigte sich die Analogie nicht nur in der Zusammensetzung, sondern auch bei der Spaltung beider Körper. Da das Cystin beim langen Erhitzen mit Alkalien den Stickstoff völlig in Form von Ammoniak abspaltet, und dass dabei zugleich Schwefelalkali gebildet wird, ist durch quantitative Versuche von Hoppe-Seyler (loc. cit.) gezeigt worden. Baumann (Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 15, S. 1734) fand, dass beim Erhitzen des Cystins mit Barytwasser neben geringen Mengen von Oxalsäure eine Säure gebildet wird, welche wie Uvitinsäure, das Umwandlungsproduct der Brenztraubensäure, sich verhält. Dagegen konnte ein directer Nachweis der

Brenztraubensäure unter den Spaltungsproducten des Cystins oder Cystëins bis jetzt nicht geführt werden, weil das Cystin durch Alkalien langsamer zersetzt wird, als die Mercaptursäuren; unter diesen Umständen war es verständlich, dass die gebildete Brenztraubensäure alsbald weiter verändert wurde und nicht mehr durch die Phenylhydrazinreaction nachweisbar war.

Neuerdings haben Baumann und Goldmann (diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 261) gezeigt, dass noch in einem anderen Punkte eine Differenz im Verhalten des Cystins und der Mercaptursäuren besteht, insofern das Cystin beim Erhitzen mit Alkalien seinen Schwefel auch beim längeren Erhitzen nicht vollständig abgibt, während die analoge Spaltung der Mercaptursäuren in kurzer Zeit glatt und quantitativ unter Bildung von Mercaptan erfolgt. Diese Differenz kann man durch den Umstand erklären, dass die SH-Gruppe durch die Disulfidbildung, welche bei den Mercaptursäuren ausgeschlossen ist, das von Letzteren abweichende Verhalten des Cystins bedingt.

Auf Grund der früher angeführten Thatsachen, hat Baumann dem Cystin und dem Cystëin folgende Formeln

$$\begin{array}{l} {CH_3 \atop NH_2} > C < {COOH \atop S} \\ \qquad\qquad\quad\; | \\ {NH_2 \atop CH_3} > C < {S \atop COOH} \end{array}$$

Cystin

$${CH_3 \atop NH_2} > C < {COOH \atop SH}$$

Cystëin

zugeschrieben. Das Cystin ist also das Disulfid der α-Amidothiomilchsäure.

Für die Zusammengehörigkeit des Cystins und der Mercaptursäuren sprechen ausser der Bildung der Letzteren im Organismus auch weitere von Goldmann und Baumann ausgeführte Versuche über das Verhalten des Cystins selbst im Stoffwechsel von Thieren, durch welche gezeigt wurde, dass nach Eingabe von Cystin nicht nur die Schwefelsäureausscheidung, sondern auch der sogenannte nicht oxydirte Schwefel des Harns in dem Verhältniss, wie diese Stoffe im normalen Harne vorkommen, vermehrt werden.

Für die endgiltige Ermittelung einer Constitutionsformel ist aber in allen Fällen das stärkste Argument auf dem Wege der Synthese zu gewinnen. Und dieser Weg ist für Untersuchungen über Cystin besonders deshalb angezeigt, weil das Cystin selbst als eine seltene und kostbare Substanz nur in kleinen Mengen erhalten werden kann. Durch einen kürzlich hier beobachteten Fall von Cystinurie ist Herr Professor Baumann in den Besitz eines neuen Vorrathes von Cystin gelangt und forderte mich auf, dieses Präparat zunächst zur Herstellung von Verbindungen, durch welche eine weiter gehende Vergleichung der Constitution der Mercaptursäuren und des Cystins geführt werden konnte, zu gebrauchen.

Die mir gestellte Aufgabe bestand zunächst darin, einen Weg aufzufinden, um vom Cystin aus, wenn nicht zu den Mercaptursäuren selbst, so doch zu diesen ganz analog zusammengesetzten Körpern zu gelangen. In Folgendem werden zunächst diejenigen Versuche geschildert, welche zur Darstellung des Aethylcystëins führten. In einem zweiten Theile der vorliegenden Arbeit sind Versuche beschrieben, welche zur Synthese des Cystins führen sollten, ihr Ziel aber bisher nicht erreichten. Die dabei gemachten Beobachtungen dürften vielleicht für Andere, welche ein ähnliches Ziel verfolgen, nicht ganz ohne Interesse sein.

Erster Theil.

1. Quecksilberverbindung des Cystëins, $C_6H_{14}N_2S_2O_4Hg_3Cl_6$.

Wenn das Cystin das Disulfid des Cystëins darstellt, wie aus früher angeführten Versuchen von Baumann zu schliessen ist, so müsste das Cystëin den Mercaptanrest SH enthalten. Es wurde zunächst versucht, Mercaptide des Cystëins herzustellen, um von diesen aus zu anderen Substitutionsproducten des Cystëins zu gelangen. Man konnte erwarten, dass bei der Einwirkung von Quecksilberoxyd auf das freie Cystëin die Bildung des Quecksilbermercaptides im Sinne folgender Gleichung erfolge:

$$2\,C_3H_6NO_2 - SH + HgO = H_2O + (C_3H_6NO_2S)_2Hg.$$

Einige vorläufige Versuche zeigten, dass hierbei nicht obige einfache Reaction eintritt, sondern dass auch die NH_2-Gruppe sich an der Umsetzung betheiligt.

Es konnte auf diesem Wege ein krystallisirtes Mercaptid nicht gewonnen werden; die Ausbeute an dem Gemenge der Quecksilberverbindungen war ausserdem dadurch noch beeinträchtigt, dass ein Theil des Cystëins bald wieder in Cystin zurückverwandelt wurde. Es wurde daher auf einem anderen Wege versucht, zur Quecksilberverbindung zu gelangen.

Fügt man zu einer Lösung von salzsaurem Cystëin Quecksilberchlorid, so entsteht sofort ein schwerer krystallinischer Niederschlag in reichlicher Menge. Die von dem Niederschlag abfiltrirte Flüssigkeit enthält weder Cystin noch Cystëin und gibt beim Eindampfen viel Salzsäure ab. Bei der Einwirkung des Quecksilberchlorids konnten daher folgende Reactionen eingetreten sein:

I. $2\,C_3H_6NO_2SH + HgCl_2 = 2\,HCl + (C_3H_6NO_2S)_2Hg.$

II. $C_3H_6NO_2SH + HgCl_2 = HCl + C_3H_6NO_2SHgCl.$

III. Eine dritte Einwirkung des Quecksilberchlorids konnte darin bestehen, dass das Quecksilberchlorid an die NH_2-Gruppe sich anlagerte.

Der gebildete Niederschlag ist in kaltem Wasser und in Weingeist so gut wie unlöslich, auch von siedendem Weingeist wird er nicht aufgenommen. In viel siedendem Wasser löst er sich schwer auf und scheidet sich beim Erkalten in mikroskopisch kleinen Kryställchen wieder ab. Die Quecksilberverbindung ist chlorhaltig. Die Reaction war somit nicht ausschliesslich im Sinne der ersten Gleichung erfolgt, und die Analyse ergab, dass keine einheitliche Substanz vorlag.

Bei der Analyse wurden folgende Werthe erhalten:

Chlorbestimmung.

I. 0,1899 gr. Substanz (exsiccatortrocken) lieferten 0,1203 gr. AgCl, entsprechend 15,63% Cl.

II. 1,0027 gr. Substanz gaben 0,6532 gr. AgCl, gleich 16,20% Cl.

Die erste Chlorbestimmung wurde durch Eintragen der mit Soda gemengten Substanzen in einen Silbertiegel, in dem

sich schmelzender Salpeter befand, ausgeführt. Bei einer zweiten Chlorbestimmung wurde die Substanz mit reinem Aetznatron längere Zeit gekocht und das dabei in Lösung gegangene Chlornatrium in gewöhnlicher Weise bestimmt.

Quecksilberbestimmung.

I. 0,2223 gr. Substanz lieferten 0,1475 gr. Hg_2Cl_2, entsprechend 56,58 % Hg.

II. 0,3167 gr. Substanz gaben 0,21265 gr. Hg_2Cl_2, gleich 56,99 % Hg.

Die Bestimmungen des Quecksilbers wurden in folgender Weise bewerkstelligt: Die in concentrirter Salzsäure gelöste Substanz wurde mit rauchender Salpetersäure versetzt, bis die stürmisch eintretende Oxydation beendigt war. Alsdann wurde, ohne einzudampfen, zu der erkalteten Flüssigkeit phosphorige Säure hinzugefügt und das abgeschiedene Calomel gewogen.

Die nach Carius' Methode ausgeführte Schwefelbestimmung ergab folgende Werthe:

0.2084 gr. Substanz lieferten 0,1020 gr. $BaSO_4$, gleich 6,62 % S.

Aus der Stickstoffbestimmung resultirten die Zahlen:

0,4403 gr. Substanz gaben bei 20° C. und 743 mm. B. 10 cbcm. Stickstoff, entsprechend 2,73 % N.

Die bei der Analyse erhaltenen Werthe zeigen, dass die Reaction in der Hauptsache nach Reactionsgleichung No. II verlaufen ist. Zunächst traten zwei Moleküle Quecksilberchlorid mit dem salzsauren Cystëin in Reaction unter Bildung einer wasserlöslichen Verbindung, welche auf zwei Moleküle salzsaures Cystëin zwei Moleküle Sublimat enthielt. Erst auf Zusatz von einem dritten Molekül Quecksilberchlorid entstand ein bleibender Niederschlag, dem wahrscheinlich folgende Zusammensetzung zukommt:

$$2\left(CH_3 - C\begin{matrix} \diagup SHgCl \\ -NH_2HCl \\ \diagdown COOH \end{matrix}\right) + HgCl_2 = C_6H_{14}N_2O_4S_2Hg_3Cl_6.$$

Wie die folgende Zusammenstellung zeigt, stimmen die analytischen Daten auf diese Formel nicht scharf. Am stärksten

ist die Abweichung zwischen dem gefundenen und dem berechneten Chlorgehalt, welcher beinahe 4% beträgt.

		Berechnet für $C_6H_{14}N_2S_2O_4Cl_6Hg_3$:			Gefunden: I.	II.
C_6	=	72	=	6,82 %	—	—
H_{14}	=	14	=	1,34 »	—	—
N_2	=	28	=	2,68 »	2,73 %	—
S_2	=	65	=	6,06 »	6,62 »	—
O_4	=	64	=	6,06 »	—	—
Cl_6	=	213	=	20,18 »	15,63 %	16,20 %
Hg_3	=	600	=	56,87 »	56,68 »	56,99 »
		1055		100,01.		

Dass hauptsächlich der Chlorgehalt abweichend vom berechneten Werthe gefunden worden ist, findet seine Erklärung ohne Zweifel darin, dass die locker gebundene Salzsäure schon durch Wasser abgespalten wird. Krystallisirt man die Quecksilberverbindung aus Wasser um, so ist das Filtrat reichlich chlorhaltig, durch Schwefelwasserstoff wird aus dem Filtrat ferner Quecksilbersulfid abgeschieden. Auch mit kaltem Wasser findet schon eine Abspaltung von Chlorwasserstoffsäure statt. Das umkrystallisirte Product enthält zum Beispiel nur noch den dritten Theil vom früher angegebenen Chlorgehalte, während der Quecksilbergehalt unverändert bleibt, wie aus folgender Analyse ersichtlich ist:

0,2457 gr. Substanz lieferten 0,0627 gr. AgCl, entsprechend 6,22% Cl.
0,2457 gr. Substanz gaben 0,1615 gr. HgS, gleich 56,61% Hg.

Das Resultat dieser Analyse ist verständlich, denn beim Erhitzen mit Wasser wird nicht nur Salzsäure, sondern auch Quecksilberchlorid abgespalten. Die ursprüngliche Quecksilberverbindung gibt schon beim Trocknen unter 100° Salzsäure reichlich ab; beim Erhitzen über 100° färbt sie sich allmälig dunkel und schliesslich wird Schwefelquecksilber abgespalten. Im Vacuum findet eine beständige, wenn auch geringe Abnahme statt, wie aus folgenden Wägungen ersichtlich ist:

1,3661 gr. der lufttrockenen Substanz verloren nach 15stündigem Verweilen über Schwefelsäure 0.0716 gr. Nach weiteren 15 Stunden ergab sich eine Differenz von 0,0182 gr.; nach 3 Stunden betrug der Gewichtsverlust 0,0075 gr., nach einer vierten und fünften Wägung 0,0036 und 0,0012 gr. Der

Gesammtverlust in 39 Stunden betrug 0,1021 gr., also zwischen sieben und acht Procent der angewandten Substanz.

Dass der Quecksilberverbindung die oben angeführte Formel $C_6H_{14}N_2S_2O_4Hg_3Cl_6$ zukommt, wurde noch auf einem anderen Wege ermittelt. Bei einem Versuche wurde ganz reines Cystin in Cystëin verwandelt und die Lösung desselben mit einer Quecksilberchloridlösung von bekannter Stärke versetzt, bis auf weiteren Zusatz von Quecksilberchlorid kein Niederschlag mehr gebildet wurde. Es zeigte sich hierbei, dass auf ein Molekül Cystin oder zwei Moleküle Cystëin fast genau drei Moleküle Quecksilberchlorid verbraucht wurden, wie aus folgendem Versuche hervorgeht:

2,4 gr. Cystin wurden durch Reduction in Cystëin übergeführt. Das staubtrockene salzsaure Salz des Cystëins wurde in Wasser gelöst und dieser Lösung allmälig eine Sublimatlösung von 8 gr. Sublimat, gleich drei Molekülen in 180 gr. Wasser hinzugegeben. Der entstandene Niederschlag wurde lufttrocken gewogen; seine Menge betrug 9,6 gr., die Theorie würde 9,8 gr. erfordert haben. Beim Zusammenbringen von Quecksilberchlorid und salzsaurem Cystëin beobachtet man, dass der erst entstandene Niederschlag in einem Ueberschuss von salzsaurem Cystëin sich wieder auflöst. Erst wenn nahezu 120 cbcm. der Quecksilberchloridlösung verbraucht sind, wird ein bleibender Niederschlag erzeugt, der sich auf weiteren Zusatz von 60 cbcm. der Sublimatlösung vermehrt. In dem Filtrate ist Salzsäure reichlich, Quecksilber nur in Spuren nachweisbar. Der so erhaltene Niederschlag stellt somit das zusammengesetzte Mercaptid des Cystëins dar. Es lag nahe zu versuchen, ob nicht durch Einwirkung von Alkalien Beseitigung vom überschüssigen Quecksilberchlorid erzielt und dadurch das einfache Mercaptid erhalten werden könnte. Zu diesem Zwecke wurde mit Natriumcarbonat digerirt; dabei wurde reichlich Chlor abgespalten; durch Bildung von Quecksilberoxyd färbte sich der Niederschlag bei gewöhnlicher Temperatur gelb; es gelang jedoch nicht, eine Trennung des muthmasslichen Mercaptides von dem beigemengten Quecksilberchlorid oder Oxyd zu bewirken. Für die Darstellung

der Quecksilberverbindung des Cystëins ist es keineswegs erforderlich, das reine Cystin zu verwenden. Man erhält diese Substanz vielmehr eben so gut, wenn man Cystinsteine direct verarbeitet, weil die Quecksilberverbindung aus ziemlich stark saurer Lösung so gut wie vollständig abgeschieden wird. Die Substanzen, welche neben dem Cystin in den Cystinsteinen enthalten sind, wie phosphorsaure Magnesia, Kalk, Ammoniak und oxalsaure Verbindungen bleiben in Lösung. Die Abscheidung der Quecksilberverbindung des Cystëins kann daher mit Vortheil dazu benützt werden, um den Cystingehalt in Cystinsteinen direct zu bestimmen. Bei der Bestimmung ist ein Ueberschuss von Quecksilberchlorid thunlichst zu vermeiden, da derselbe ein längeres Auswaschen der Quecksilberverbindung bedingen würde, wodurch auch Salzsäure und Quecksilberchlorid abgespalten würden. Man erreicht dieses leicht, wenn man die Menge Quecksilberchloridlösung von bekannter Stärke sich merkt, welche gerade nöthig war, um einen bleibenden Niederschlag zu bilden, man titrirt also sozusagen und fügt dann zur völligen Abscheidung die Hälfte der schon verbrauchten Menge Sublimatlösung noch hinzu. Der Niederschlag wird sehr rasch abgesaugt und lufttrocken gewogen.

2. Aethylcystëin,

$C_3H_6NO_2(SC_2H_5)$.

Da es nicht gelungen war, das Quecksilbermercaptid frei und in reinem Zustande zu isoliren, so wurden Versuche gemacht, die oben beschriebene Quecksilberbindung zur Darstellung von Substitutionsproducten des Cystëins zu benützen. Nach mehreren vergeblichen Versuchen gelang es, eine Methode aufzufinden, den Rest des Quecksilberchlorids, welcher durch Schwefelbindung im Cystëin enthalten ist, durch eine Aethylgruppe zu ersetzen und auf diesem Wege das Aethylcystëin darzustellen.

5 gr. eines 90procentigen Cystinsteines wurden in salzsaures Cystëin übergeführt und daraus vermittelst Quecksilberchlorid 18 gr. der Quecksilberverbindung erhalten; die angewandte Cystinmenge betrug nach der erhaltenen Ausbeute

an der Quecksilberverbindung zu schliessen $^{18}/_4$ gr. = 4,5 gr. Cystin. Die 18 gr. Mercaptid wurden mit 100 cbcm. Aethylalkohol übergossen und 60 gr. Aethyljodid hinzugegeben. Wurde das Gemisch am aufsteigenden Kühler auf dem Wasserbade unter häufigem Umschütteln erwärmt, so zwar, dass die Temperatur auf 60—70° blieb, so bemerkte man nach ungefähr einer Viertelstunde, dass die Quecksilberverbindung sich auflöste, und dass nach drei Viertelstunden die Einwirkung beendet und Alles in Lösung gegangen war. Die weingelb gefärbte Lösung wurde in Wasser gegossen, wobei das Quecksilberjodid in gelben Krystallen sich abschied, die beim Reiben mit einem Glasstabe roth wurden. Die abfiltrirte Lösung wurde zur Entfernung des Aethyljodids auf dem Wasserbade kurze Zeit erwärmt und zur Entfernung des Quecksilbers mit Schwefelwasserstoff behandelt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Lösung wurde bei 70° auf ein kleines Volumen verdunstet, mit Ammoniumcarbonat genau neutralisirt und mit der 25fachen Menge absolutem Alkohol versetzt. Dabei entstand eine reichliche krystallinische Fällung einer farblosen Substanz, welche durch Umkrystallisiren aus 50procentigem Weingeist gereinigt wurde.

Aus der weingeistigen Lösung krystallisiren perlmutterglänzende Blättchen. Dieselben fühlen sich fettig an und werden nur schwer von Wasser benetzt. Die Lösung zeigt keinen besonderen Geschmack und reagirt neutral. Die Substanz schmilzt bei 226—228° und färbt sich braun. Die Analyse ergab folgende Werthe:

I. 0,1426 gr. Substanz gaben 0,2102 gr. CO_2, gleich 40,18 % C, und 0,100 gr. H_2O, entsprechend 7,77 % H.

II. 0,0993 gr. Substanz lieferten 0,1590 gr. $BaSO_4$, gleich 21,96 % S.

III. 0,0816 gr. Substanz ergaben bei 17° C. und 737 mm. B. 6,9 cbcm. feuchten Stickstoff, entsprechend 9,41 % N.

		Berechnet für $C_5H_{11}NSO_2$:	Gefunden:
C_5	= 60	= 40,26 %	40,18 %
H_{11}	= 11	= 7,31 »	7,77 »
N	= 14	= 9,34 »	9,41 »
S	= 32	= 21,54 »	21,96 »
O_2	= 32	= 21,54 »	—
	149	99,99 %.	

Aus der Analyse ist ersichtlich, dass ein Aethylsubtitutionsproduct des Cystëins erhalten worden ist. Der Körper entspricht in seiner Zusammensetzung vollständig den von Baumann und Preusse (loc. cit.) beschriebenen Phenylcystëin, wie durch folgende Formeln zum Ausdruck kommt:

$$CH_3 - C \begin{cases} NH_2 \\ -COOH \\ SC_2H_5 \end{cases} \qquad CH_3 - C \begin{cases} NH_2 \\ -COOH \\ SC_6H_5 \end{cases}$$

Aethylcystëin — Phenylcystëin.

Beide Körper unterscheiden sich dadurch, dass das Letztere in Wasser schwer löslich ist. Das Aethylcystëin verbindet sich mit Salzsäure, in welcher es noch reichlicher löslich ist, als in Wasser. Beim Verdunsten der Salzsäure hinterbleibt eine strahlig krystallinische Masse, welche das salzsaure Salz des Aethylcystëins darstellt. In Natronlauge ist es unter schwacher Rothfärbung, welche beim Erhitzen wieder verschwindet, löslich. Das salzsaure Salz gibt mit Platinchlorid ein Doppelsalz, welches in Wasser leicht löslich ist. Aus der wässerigen Lösung wird auf Zusatz von Alkohol ein undeutlich krystallinisches, gelb gefärbtes Doppelsalz ausgeschieden. Das in Wasser gelöste freie Aethylcystëin reagirt mit Quecksilberchlorid nur allmälig und erzeugt mit demselben eine weisse krystallinische Fällung, die in heissem Wasser löslich ist und beim Erkalten in mikroskopischen Krystallen sich wieder abscheidet.

Die Cystine sind optisch activ. Das specifische Drehungsvermögen des Cystins in ammoniakalischer Lösung ist nach Külz — 142,02° (Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 15, S. 1401), in saurer Lösung nach Mauthner — 205,8° (diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 225). Baumann (diese Zeitschrift, Bd 8, S. 303) fand das specifische Drehungsvermögen des Cystins in stark saurer Lösung zu — 214°. Das Drehungsvermögen des Cystëins ist viel geringer als das des Cystins. Nach einem Versuche Baumann's (loc. cit.) berechnet sich das specifische Drehungsvermögen des Cystëins in salzsaurer Lösung auf — 12° 36′. Ebenso gering ist das Drehungsvermögen der Mercaptursäuren und der aus denselben gewonnenen optisch

activen Producte. Nach Schmitz (Inaugural-Dissertation, Freiburg 1886, S. 13) beträgt bei der Jodphenylmercaptursäure der Werth für $[\alpha]_D$ — 10° 40′.

Stärker drehend als das Cystëin in saurer Lösung und die Mercaptursäuren zeigt sich das freie Aethylcystëin. Die mit der 5procentigen wässerigen Lösung im Laurent'schen Halbschatten-Apparat ausgeführten Drehungsbestimmungen gaben folgende Ablenkungen:

1. Ablesung	— 2° 50′
2. »	— 2° 50′
3. »	— 2° 52′
4. »	— 2° 48′
5. »	— 2° 52′
6. »	— 2° 47′.

Mithin im Mittel — 2° 49′. Daraus ergibt sich für $[\alpha]_D$ — 28° 18′. Demnach ist das Drehungsvermögen des freien Aethylcystëins ungefähr 2—2½ mal stärker, als das des Cystëins. Indessen ist auch hier der Einfluss des Lösungsmittels wie beim Cystin selbst ein bedeutender. Beobachtungen mit einer 10procentigen Lösung des salzsauren Aethylcystëins, bei Ausschluss von überschüssiger Salzsäure, ergaben viel niedrigere Werthe.

Eine 10procentige Lösung des salzsauren Salzes des Aethylcystëins gibt folgende Ablenkungen:

1. Ablesung	— 1° 12′
2. »	— 1° 03′
3. »	— 1° 09′
4. »	— 1° 12′
5. »	— 1° 15′
6. »	— 1° 20′.

Mithin im Mittel 1° 11′ in der 1 dm.-Röhre. Daraus ergibt sich für $[\alpha]_D$ der Werth 11° 50′, ein Werth, der dem des salzsauren Cystëins schon sehr nahe kommt, Letzteres zeigt für $[\alpha]_D$ den Werth — 12° 36′.

3. Spaltung des Aethylcystëins durch Alkalien.

Wenn das Aethylcystëin die durch seine Zusammensetzung und durch die Art seiner Bildung angezeigte, dem Phenylcystëin analoge, Constitution besitzt, so musste es wie

dieses bei den Einwirkungen von Alkalien glatt zerlegt werden in Aethylmercaptan, Ammoniak und Brenztraubensäure. Ein qualitativer Versuch ergab zunächst, dass beim Erhitzen der Substanz mit Natronlauge und Bleiacetat kein Schwefelblei mehr abgeschieden wurde, obwohl vollständige Zersetzung unter Ammoniakentwickelung eintrat. Die Flüssigkeit färbte sich etwas braun. Beim Erwärmen mit Aetznatron allein tritt neben Ammoniak bald ein sulfidartiger Geruch auf. Bringt man das Aethylcystëin mit Natronlauge und etwas Fehling'scher Lösung zusammen, so findet beim Erwärmen auf 80° nach einiger Zeit die Abscheidung eines käsig flockigen, schwach gelblich gefärbten Niederschlages statt, welcher unschwer als die Kupferverbindung des Aethylmercaptans zu erkennen war. Bringt man den abfiltrirten Niederschlag mit Salzsäure zusammen und erwärmt, so tritt ein intensiver Geruch nach Aethylmercaptan auf, durch welches ein Bleipapier, das man darüber hält, citronengelb gefärbt wird. Der auf diese Weise durch Zersetzen mit Natronlauge und Fehling'scher Lösung aus dem Aethylcystëin gewonnene Kupferniederschlag wurde analysirt und eine Kupferbestimmung als Kupfersulfür ergab folgende Resultate:

0,0725 gr. Substanz ergaben 0,0308 gr. Cu_2S, entsprechend 33,87 % Cu.

	Berechnet für $Cu(SC_2H_5)_2$:	Gefunden:
Cu =	34,05 %	33,87 %.

Es besteht also hinsichtlich der Abspaltung des Mercaptans und Ammoniaks zwischen Aethyl- und Phenylcystëin kein Unterschied. Dagegen gelang es nicht, das dritte Spaltungsproduct des Aethylcystëins, die Brenztraubensäure, als Phenylhydrazinbrenztraubensäure nachzuweisen.

Die Ursache dieses unerwarteten Verhaltens des Aethylcystëins wurde erkannt, als Bromphenylcystëin, welches von den früheren Arbeiten her sich noch in der Sammlung des Laboratoriums befand, und Aethylcystëin, von jedem 0,1 gr., unter gleichen Bedingungen mit alkalischer Kupferlösung erhitzt wurden. Dabei zeigte sich, dass die Abscheidung des Kupfermercaptides in beiden Fällen ziemlich gleichzeitig begann, wenn man beide Substanzen bei einer Temperatur von ca. 90°

der Einwirkung von Aetznatron und Fehling'scher Lösung aussetzte. Allein bei der Zersetzung des Phenylcystëins ist diese Spaltung in acht Minuten beendet. Filtrirt man nach dieser Zeit das Kupfermercaptid ab und erhitzt das Filtrat weiter mit Fehling'scher Lösung zum Sieden, so findet keine weitere Bildung von Kupfermercaptid mehr statt. Ganz anders bei dem Aethylcystëin. Filtrirt man hier nach acht Minuten das gebildete Mercaptid ab und erhitzt das Filtrat von Neuem mit Fehling'scher Lösung, so entsteht wieder ein Niederschlag von Kupfermercaptid, der bei fortgesetztem Erhitzen noch beträchtlicher ist, als die zuerst erhaltenen Mengen. Erst nach dreiviertelstündigem Erhitzen von 0,1 gr. Aethylcystëin mit Fehling'scher Lösung und Natronlauge war die Spaltung beendigt und wurde beim weiteren Kochen kein Mercaptid mehr abgeschieden.

Wenn man das Bromphenylcystëin mit 10procentiger Natronlauge einige Minuten bis zum Sieden erhitzt, mit Essigsäure ansäuert, vom abgeschiedenen Bromphenylmercaptan abfiltrirt und die Flüssigkeit mit essigsaurem Phenylhydrazin versetzt, so krystallisirt in kurzer Zeit die Phenylhydrazinbrenztraubensäure in feinen langen Nadeln, welche die Flüssigkeit bald ganz erfüllen, aus. Diese Reaction gelingt bei dem Aethylcystëin nicht. Die Ursache des Ausbleibens derselben konnte in der langsamen Zersetzung des Aethylcystëins gesucht werden, indem die allmälig abgespaltene Brenztraubensäure durch das Alkali in bekannter Weise weiter umgewandelt wird. Um diese Annahme auf ihre Richtigkeit zu prüfen, wurden einige Tropfen Brenztraubensäure mit 10procentiger Natronlauge auf dem Wasserbade erwärmt. Dabei zeigte sich, dass nach fünf Minuten langem Erhitzen durch die Phenylhydrazinreaction in der angesäuerten Flüssigkeit die Brenztraubensäure noch deutlich und reichlich nachgewiesen werden konnte. Wurde aber zwanzig Minuten lang erhitzt, so gab die mit Essigsäure angesäuerte Lösung kein Brenztraubensäurehydrazon mehr. Es genügt somit, die Brenztraubensäure nur halb so lange mit Natronlauge zu erhitzen, als zur Zersetzung des Aethylcystëins erforderlich ist, damit die der

Flüssigkeit zugesetzte Brenztraubensäure völlig verschwindet. Durch dieses Verhalten ist also eine Erklärung dafür gegeben, weshalb bei der Zersetzung des Aethylcystëins die Brenztraubensäure durch die ungemein empfindliche Phenylhydrazinprobe nicht nachgewiesen werden konnte.

Bei der Wichtigkeit, welche dem Nachweise der Brenztraubensäure bei der Zersetzung des Aethylcystëins zukommt, wurde auf verschiedenen anderen Wegen die Spaltung des Aethylcystëins vorgenommen, in der Erwartung, dadurch Phenylhydrazinbrenztraubensäure zu bekommen. Es zeigte sich, dass schon das Erhitzen mit Natriumcarbonat in Lösung genügt, um aus dem Aethylcystëin Mercaptan abzuspalten; allein die Zersetzung geht in diesem Falle so langsam vor sich, dass die etwa dabei gebildete Brenztraubensäure durch die längere Dauer der Einwirkung der Sodalösung wiederum zersetzt wird. Controlversuche mit Brenztraubensäure, welche mit derselben Lösung eine halbe Stunde erhitzt wurde, zeigten, dass nach dieser Zeit die Brenztraubensäure aus der Lösung verschwunden war. Erhitzen des Aethylcystëins mit freiem Phenylhydrazin führte zu keinem besseren Resultate, ebenso wenig als durch Erhitzen von Aethylcystëin mit essigsaurem Phenylhydrazin auf 130° Phenylhydrazinbrenztraubensäure abgeschieden werden konnte.

Die Brenztraubensäure selbst kann man wohl mit Phenylhydrazin oder essigsaurem Phenylhydrazin längere Zeit auf 110—130° erhitzen, ohne dass das gebildete Hydrazon wesentlich weiter verändert wird; es muss also hier keine Zersetzung des Aethylcystëins erfolgt sein.

In dem Aethylcystëin ist nach dem früher Ausgeführten ohne allen Zweifel eine NH_2-Gruppe enthalten. Es war dadurch die Möglichkeit gegeben, aus dem Aethylcystëin durch Einwirkung von äquivalenten Mengen salpetriger Säure die sehr unbeständige Aethylmercaptanbrenztraubensäure zu erhalten, eine Reaction, die im Sinne folgender Gleichung verlaufen würde:

$$CH_3-C\begin{matrix}\diagup SC_2H_5\\ -COOH\\ \diagdown NH_2\end{matrix} + HNO_2 = CH_3-C\begin{matrix}\diagup SC_2H_5\\ -COOH\\ \diagdown OH\end{matrix} + 2N + H_2O.$$

Letztere Säure ist sehr unbeständig und wird schon durch Wasser in Aethylmercaptan und Brenztraubensäure zersetzt.

$$CH_3-C\begin{matrix}\diagup SC_2H_5\\ -OH\\ \diagdown COOH\end{matrix} + H_2O = CH_3-CO-COOH + HSC_2H_5 + H_2O.$$

Zu diesem Versuche wurden 1,5 gr. Aethylcystëin in Wasser gelöst, mit 0,7 gr. Natriumnitrit zusammengebracht und mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert. Schon in der Kälte trat Gasentwickelung ein, die aber verhältnissmässig geringfügig blieb. Es schien erforderlich, die Reaction durch gelindes Erwärmen auf dem Wasserbade zu unterstützen; hierbei wurde die Gasentwickelung etwas reichlicher, blieb aber immer noch träge. Es schien indessen so, als ob diese Reaction nicht in dem beabsichtigten Sinne verlief. Aus der langsamen Gasentwickelung konnte man schliessen, dass die Einwirkung der salpetrigen Säure nicht glatt verlief. In dem Reactionsproducte wurde auf Zusatz von essigsaurem Phenylhydrazin keine Spur von Brenztraubensäurehydrazon gebildet. Auch hier ist der Umstand störend und kann als Ursache des Misslingens der Reaction angesehen werden, dass die Brenztraubensäure selbst schon in Berührung mit salpetriger Säure bei gewöhnlicher Temperatur eine weiter gehende Zersetzung erleidet. Ein Controlversuch zeigte, dass einige Tropfen Brenztraubensäure, welche in wenig Wasser gelöst waren, auf Zusatz von salpetrigsaurem Natron schon nach fünf Minuten in der Flüssigkeit durch die Phenylhydrazinprobe nicht mehr nachweisbar waren. In diesem Falle wurde die noch in der Flüssigkeit vorhandene salpetrige Säure durch einige Krystalle von Harnstoff beseitigt, bevor das Phenylhydrazin hinzugegeben wurde. Dieser Versuch zeigt auch dadurch, warum und weshalb es im Gegensatz zu den Angaben von Dewar und Gamgee (loc. cit.) nicht möglich ist, aus dem Cystin durch Einwirkung von salpetriger Säure Brenztraubensäure in Substanz zu erhalten.

Bei der Zersetzung des Aethylcystëins durch Alkalien wurde noch eine Beobachtung gemacht, welche ich nicht

unerwähnt lassen darf. Baumann und Preusse haben gezeigt, dass bei der Zersetzung der Mercaptursäuren und des Phenylcystëins die Abspaltung von Ammoniak und Mercaptan immer gleichzeitig erfolgt. In gleicher Weise hat Baumann beim Cystin beobachtet, dass die Abspaltung des Schwefels und Ammoniaks bei der Einwirkung von Alkalien auch gleichzeitig eintritt. Erhitzt man das Aethylcystëin mit Natronlauge zum Sieden, so kann man durch Quecksilberoxydulpapier das Auftreten des Ammoniaks unmittelbar nach der reichlichen Abscheidung des Kupfermercaptides wahrnehmen. Erhitzt man aber das Aethylcystëin gerade auf diejenige Temperatur, bei welcher die Spaltung überhaupt eintritt, so ist die Entwickelung des Ammoniaks erst dann deutlich zu beobachten, wenn die Abscheidung des Kupfermercaptides nahezu beendet ist.

Erwärmt man 0,1 gr. Aethylcystëin mit Natronlauge und Fehling'scher Lösung auf 70—75°, so tritt während zweier Stunden die Abscheidung des Kupfermercaptids auf, ohne dass mehr als Spuren von Ammoniak nachweisbar sind. Nach zwei Stunden stellen sich die Abscheidungen des Mercaptides ein; an ihre Stelle tritt nun eine Ausscheidung von Ammoniak ebenfalls allmälig ein. Dieselbe kann während einer Stunde mit Quecksilberoxydulpapier nachgewiesen werden, eine Reaction, die im Zeitraum der ersten zwei Stunden nicht zu erhalten ist. Am folgenden Tage kann durch Aufkochen noch mehr Ammoniak erhalten werden.

0,1 gr. Aethylcystëin würden 0,0114 gr. Ammoniak liefern; 0,1 gr. der Chlorphenylmercaptursäure dagegen blos 0,00621 gr. Bei der Chlorphenylmercaptursäure konnte die geringere Ammoniakmenge bei gleicher Temperatur unter denselben Bedingungen und bei gleichen Flüssigkeitsvolumen schon nach dreiviertel Stunden mit Quecksilberoxydulpapier nachgewiesen werden. Es scheint demnach, dass auch die Ammoniakentwickelung beim Aethylcystëin träger und langsamer verläuft, als beim Phenylcystëin, respective der Mercaptursäure.

Aus dem Vorstehenden ist ersichtlich, dass das Aethyl- und Phenylcystëin unter dem Einflusse von Alkalien unter

Ammoniak- und Mercaptan-Bildung zerlegt werden und dass die Spaltung wesentlich schneller verläuft bei dem Phenylcystëin als bei dem Aethylcystëin. Der Grund dieses ungleichen Verhaltens kann durch die festere Bildung des Restes der Thioäthylgruppe gegeben sein. Ob eine solche wirklich statt hat, konnte durch den Versuch nicht in anderer Weise, als es geschehen ist, nachgewiesen werden. So beachtenswerth die geringen Differenzen in der Zersetzung der beiden Cystëine auch sind, so können dieselben doch nicht, namentlich im Hinblick auf die früher ausgeführten Controlversuche mit der Brenztraubensäure für eine verschiedene Constitution der beiden Cystëine geltend gemacht werden. Man darf vielmehr in der Thatsache, dass das Aethylcystëin auf dem früher geschilderten Wege aus dem Cystin dargestellt werden kann, und dass dieses Aethylcystëin, was die Abspaltung von Ammoniak und Mercaptan anbelangt, sich so wie das Phenylcystëin verhält, eine Bestätigung der von Baumann (loc. cit.) begründeten Constitution des Cystins erblicken. Das von Baumann aus dem Cystin, wenn auch in geringer Menge, erhaltene Umwandlungsproduct der Brenztraubensäure, die Uvitinsäure, ist bei den von mir angestellten Versuchen der Spaltung des Aethylcystëins nicht aufgesucht worden, weil dazu die zur Spaltung des Aethylcystëins verwendeten Mengen nicht gross genug waren. Wollte man für das Aethylcystëin, beziehungsweise das Cystin eine andere als die oben aufgestellte Formel annehmen, so bliebe nur die Möglichkeit, dass das Schwefelatom und die Amidogruppe an zwei verschiedenen Kohlenstoffatomen sitzen. Es würden dann für Aethylcystëin die beiden folgenden Formeln in Betracht kommen:

$$CH_2 - NH_2 - CH(SC_2H_5) - COOH$$

α-Thioäthyl-β-amidopropionsäure

und

$$CH_2(SC_2H_5) - CH \cdot NH_2 - COOH$$

α-Amido-β-thioäthylpropionsäure.

Keine dieser beiden Formeln würde die Thatsache erklären können, dass Ammoniak und Mercaptanunter der Einwirkung von siedendem Alkali gleichzeitig abgespalten

werden. Keine der beiden Formeln würde überhaupt die relativ leichte und vollständige Abspaltung des Mercaptanrestes erklären können, denn solche Körper, in welchen ein oder zwei Mercaptanreste an einem Kohlenstoffatom gebunden sind, an welches nur Kohlenstoff- und Wasserstoffatome ausserdem geknüpft sind, spalten beim Erhitzen mit Alkalien kein Mercaptan ab. Während zum Beispiel die Thioglycolsäure beim Erhitzen mit Bleioxyd und Natronlauge alsbald Schwefelblei gibt, spaltet die Thiophenylglycolsäure selbst beim langen Kochen mit Natronlauge kein Mercaptan ab. Ich habe mich durch besondere Versuche von diesem Verhalten der Thioglycolsäure und der Thiophenylglycolsäure überzeugt. Auch die Dithioäthylpropionsäure $CH_3 - C(SC_2H_5)_2COOH$ spaltet beim Erhitzen mit Alkalien keine Spur von Aethylmercaptan ab. Ebenso wenig wäre die Abspaltung von Ammoniak beim Kochen mit Sodalösung verständlich, wenn im Cystin oder Aethylcystëin die Gruppe $-CH_2NH_2$ oder die Gruppe $= CHNH_2$ enthalten wäre. Denn weder das α-Alanin noch das β-Alanin geben beim Erhitzen mit wässerigem Aetznatron Ammoniak ab.

4. Ueber Benzoylcystin.

$C_6H_{10}N_2S_2O_4(C_7H_5O)_2$.

Von Baumann und Udránszky (diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 79) sind vor Kurzem Versuche angestellt worden, einen ursächlichen Zusammenhang des gleichzeitigen Auftretens von Cystin und von Diaminen bei der Cystinurie aufzufinden. Bei diesen Versuchen wurde das Cystin in Form von Benzoylcystin aus dem Harne gewonnen. Die nach und nach gesammelte Menge der Benzoylverbindung des Cystins wurde mir von Herrn Professor Baumann behufs weiterer Verarbeitung übergeben. Das Benzoylcystin ist schon von Baumann und Goldmann (diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 254) erwähnt worden. Indessen ist dieser Körper noch nicht eingehender geschildert, auch ist noch keine Vorschrift für die Darstellung dieser Substanz veröffentlicht worden. Es mag daher hier wohl am Platze sein, dieses nachzuholen und auch

einige wenige Salze desselben, soweit das kostbare Material deren Darstellung gestattete, zu beschreiben.

2 gr. reines Cystin wurden in wenig 10procentiger Natronlauge gelöst und die Flüssigkeit mit Wasser auf 110 cbcm. verdünnt. Man fügte weitere 50 cbcm. Natronlauge und 6 cbcm. Benzoylchlorid hinzu und schüttelte, bis der Geruch nach Benzoylchlorid völlig verschwunden war. Die Flüssigkeit wurde sodann auf drei Liter verdünnt und mit Salzsäure angesäuert. Die bei der ebengenannten Reaction als Nebenproduct auftretende Benzoësäure blieb bei dem Flüssigkeitsvolumen von drei Litern zum grössten Theil in Lösung, das wasserunlösliche Benzoylcystin schied sich dabei in überraschender Weise in Form einer dicken Gallerte aus, so zwar, dass der Kolben beim Umwenden keine Flüssigkeit ausfliessen liess. Die Gallerte wurde durch Schütteln und Zertrennen mit einem Glasstabe in der Flüssigkeit vertheilt und durch Absaugen gesammelt. Das an der Luft getrocknete unreine Präparat wurde zur weiteren Reinigung in wenig 10procentiger Natronlauge aufgelöst, die Lösung mit Wasser auf drei Liter verdünnt und mit Salzsäure angesäuert. Die jetzt benzoësäurefrei, jedoch wieder gallertartig sich abscheidende Substanz wurde schliesslich aus mässig verdünntem Alkohol umkrystallisirt, wobei sich blumenkohlartige Massen ausscheiden, die aus feinen biegsamen Nadeln bestehen, welche geringen Seidenglanz besitzen. Der Schmelzpunkt dieser Substanz liegt bei 180—181°, heim weiteren Erhitzen tritt Zersetzung ein. Von Goldmann und Baumann (diese Zeitshrift, Bd. 12, S. 255) ist derselbe zu 156—158° angegeben. Es scheint, dass hier kein vollständig reines Benzoylcystin vorgelegen hat.

Die Benzoylirung verläuft bei der angewandten Menge von 6 cbcm. Benzoylchlorid nicht quantitativ, man gewinnt etwa nur die Hälfte des Cystins als Benzoylcystin; die andere Hälfte des Cystins bleibt in der Mutterlauge und kann daraus durch eine zweite Benzoylirung gewonnen werden. Man dampft die schwach saure Flüssigkeit vorsichtig und bei gelinder Wärme auf ein kleines Volumen ein und schüttelt noch einmal auf die gleiche Weise mit Benzoylchlorid und Natronlauge.

Die Ausbeute entspricht in dem Falle des zweimaligen Benzoylirens nahezu der Theorie: 2 gr. Cystin würden 3,8 gr. liefern, beim Versuche ergaben sich 3,5 gr. Dem Benzoylcystin kommt die Formel $C_6H_{10}N_2S_2O_4(C_7H_5O)_2$ zu, wie aus der Analyse hervorgeht:

I. 0,1135 gr. Substanz gaben 0,2225 gr. CO_2, gleich 53,45 % C, und 0,051 gr. H_2O, entsprechend 4,91 % H.

II. 0,2161 gr. lieferten bei 29° C. und 737 mm. B. 13,6 cbcm. feuchten Stickstoff, gleich 6,68 % N.

III. 0,1012 gr. Substanz ergaben 0,1047 gr. $BaSO_4$, gleich 14,18 % S.

Zusammenstellung der gefundenen mit den der Formel entsprechenden Zahlen:

		Berechnet für $C_6H_{10}N_2S_2O_4(C_7H_5O)_2$:			Gefunden:
C_{20}	=	240	=	53,57 %	53,45 %
H_{20}	=	20	=	4,46 »	4,91 »
S_2	=	64	=	14,28 »	14,18 »
N_2	=	28	=	6,25 »	6,68 »
O_6	=	96	=	21,43 »	—
		448		99,99.	

Gemäss seiner Bildung aus Cystin (vergl. E. Goldmann und Baumann, diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 255) kommt dem Benzoylcystin folgende Formel zu:

$$\begin{array}{l} (C_6H_5CO)-\overset{\displaystyle NH}{\underset{\displaystyle S}{}} > C < \begin{matrix} CH_3 \\ COOH \end{matrix} \\ \qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\quad \underset{\displaystyle (C_6H_5CO)-NH}{S} > C < \begin{matrix} CH_3 \\ COOH \end{matrix} \end{array}$$

Es stellt also die Dibenzoylverbindung des Cystins dar. Dieselbe ist in Wasser so gut wie unlöslich, ebenso wenig wird sie von verdünnten oder concentrirten Säuren gelöst, da sie keine Salze mehr mit denselben bilden kann. In Alkohol und Aether ist das Benzoylcystin jedoch löslich und kann durch Letzteren aus Flüssigkeiten ausgeschüttelt werden. In verdünnter Natronlauge löst es sich auf und erzeugt mit viel Natronlauge ein krystallinisches Natronsalz, aus welchem durch Salzsäure wieder die charakteristische Gallerte von Benzoylcystin gefällt wird. Mit Natronlauge gekocht, verhält es sich wie das Cystin, bildet jedoch ausser Ammoniak und Schwefel-

alkali noch Benzoësäure. Aus Carbonaten treibt es Kohlensäure aus. In Aetzbaryt löst es sich leicht auf, die Lösung liefert beim Eindampfen das

Bariumsalz, $C_{20}H_{18}N_2S_2O_6Ba + 5 H_2O$,

das in feinen biegsamen, alkohol- und wasserlöslichen Krystallen sich abscheidet.

Barytbestimmung.

0,1168 gr. Substanz des wasserfreien Salzes lieferten 0,0467 gr. $BaSO_4$ = 23,50%; die Theorie verlangt 23,49% Ba.

Krystallwasserbestimmung.

0,19235 gr. Substanz gaben bei 140° C. 0,0252 H_2O ab = 13,05%; die Theorie verlangt 13,37% H_2O.

Das Silbersalz, $C_{20}H_{18}N_2S_2O_6Ag_2$,

entsteht beim Fällen von neutralem Bariumsalz mit neutralem, salpetersaurem Silber als flockiger, lichtempfindlicher Niederschlag. Derselbe ist krystallwasserfrei und löst sich kaum in Wasser und Alkohol; von warmem Ammoniak wird es leicht gelöst. Die ammoniakalische Lösung wird mit verdünnter Salpetersäure gallertartig gefällt.

Silberbestimmung.

0,0931 gr. Substanz hinterliessen beim Glühen 0,0304 metallisches Silber, entsprechend 32,65%; die Theorie erfordert 32,62%.

Es ist nicht gelungen, aus dem Benzoylcystin ein Benzoylcystëin darzustellen. Die zu diesem Zwecke versuchte Reduction mit Zinn und Salzsäure (das Benzoylcystin wurde vorher in etwas Alkohol gelöst) führte zur Abspaltung von Benzoësäure und Bildung von Cystëin. Das vom Zinn befreite Filtrat wurde zur Trockene verdampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und mit einigen Tropfen Eisenchlorid oxydirt. Es trat die für das Cystëin bekannte indigblaue Färbung auf, die rasch wieder verschwand. Beim Ansäuern mit Salzsäure wurde jedoch keine gallertartige Fällung erhalten, sondern aus der angesäuerten Flüssigkeit konnte Benzoësäure durch Ausschütteln mit Aether gewonnen werden. Ein anderer Theil des nicht oxydirten Rückstandes gab mit Quecksilberchlorid die für das

Cystëin charakteristische Fällung. Es war somit wohl eine Reduction vor sich gegangen, jedoch verlief dieselbe anders als angestrebt wurde. Das Molekül des Benzoylcystins wurde in Benzoësäure und Cystëin zerlegt.

Das Benzoylcystin wird in der Kälte von concentrirter Salzsäure weder gelöst, noch angegriffen. Wendet man bei der Einwirkung der Salzsäure dagegen eine Temperatur von 100—110° an und erhitzt in geschlossenen Röhren 18—20 Stunden, so tritt eine allmälige Lösung des Benzoylcystins ein. In dem Maasse, als die Lösung erfolgt, spaltet sich auch Benzoylcystin in seine Componenten Benzoësäure und Cystin. Der langsame Verlauf dieser Reaction erklärt sich aus der geringen Löslichkeit der Benzoylverbindung. Auf diesem Wege kann man aus dem Benzoylcystin das Cystin glatt und quantitativ wieder gewinnen.

5. Versuch der Darstellung einer Uramidosäure.

Das Benzoylcystin gibt keine Uramidosäure mehr; die Bildung einer derartigen Substanz wird durch die Gegenwart der Benzoylgruppe im Amidreste ausgeschlossen. Dagegen kann man das Cystin durch Anlagerung von Isocyansäure in einen zusammengesetzten Harnstoff überführen. Diese Reaction ist analog der Bildung der Hydantoïnsäure aus Amidoessigsäure und kann folgendermassen eingeleitet werden:

2,4 gr. Cystin wurden mit 3 gr. cyansaurem Kali und circa 20 cbcm. Wasser auf dem Wasserbade schwach erwärmt. Nach einiger Zeit wurden weitere $2^1/_2$ gr. cyansaures Kali hinzugefügt. Beim längeren Erwärmen trat allmälig unter Braunfärbung Lösung ein. Man liess über Nacht stehen und erwärmte am anderen Tage vor dem Ansäuern mit Schwefelsäure auf 70 Grad. Als der sehr stechende Geruch der Cyansäure völlig verschwunden war, wurden die Sulfate mit Alkohol ausgefällt und die Flüssigkeit unter Zusatz von 25 cbcm. verdünnter Schwefelsäure auf dem Wasserbade eingedampft. Der aus heissem Wasser umkrystallisirte Rückstand lieferte gelblich weisse, undurchsichtige und undeutliche Blättchen, die im kalten Wasser kaum löslich sind. Trotz zwei- bis dreimaligem Um-

krystallisiren aus heissem Wasser veränderten die Krystalle ihren Habitus nicht wesentlich und konnten nicht in besserer Form erhalten werden. Die Krystalle zersetzten sich beim Erhitzen unter Entwickelung von Ammoniak, ohne zu schmelzen. Sie sind in kaltem Wasser schwer, in heissem leicht löslich; auch in kaltem Weingeist lösen sie sich schwer. Beim Umkrystallisiren setzte sich die Anfangs stark sauer reagirende Substanz in einen völlig neutralen Körper um, von welchem schliesslich nur eine kleine Menge in reinem Zustande erhalten wurde. Eine Kohlen- und Wasserstoffbestimmung zeigte, dass die zuerst gebildete Uramidosäure sich in das zugehörige Hydantoïn verwandelt hatte:

0,1201 gr. Substanz gaben 0,1473 gr. CO_2, entsprechend 33,44% C, und 0,0445 gr. H_2O, gleich 4,11% H.

	Berechnet für die Uramidosäure:	Gefunden:		Berechnet für das Uramidosäureanhydrid:
C	= 29,44%	33,44%	C	= 33,10%
H	= 4,29 »	4,11 »	H	= 3,44 »

Der neuen Verbindung kommt somit die Constitutionsformel zu:

```
CO ———— NH              NH ———— CO
|        |               |       |
NH — CO — C — S — S — C — CO — NH
          |               |
          CH3             CH3
```

Zusammenstellung der bis jetzt gewonnenen Resultate.

I. Das Cystëin reagirt mit Quecksilberchlorid unter Bildung des Atomcomplexes — SHgCl.

II. Das Quecksilbersalz liefert mit Jodäthyl Aethylcystëin.

III. Das Aethylcystëin spaltet wie das Phenylcystëin mit Natronlauge und Fehling'scher Lösung gekocht, Mercaptan und Ammoniak ab, zersetzt sich jedoch langsamer als das Phenylcystëin.

IV. Beim Aethylcystëin ist durch alkalische Mittel, sowie durch salpetrige Säure die Brenztraubensäure als

Spaltungsproduct nicht nachweisbar, weil Letztere zu leicht weiter verändert wird.

V. Das Cystin bildet ein Benzoylderivat, welches durch Salzsäure in Benzoësäure und Cystin gespalten wird.

VI. Das Cystin bildet mit Isocyansäure eine Uramidosäure, welche durch Abspaltung von Wasser leicht in das entsprechende Hydantoïn übergeht.

Zweiter Theil.

Die im zweiten Theil der Arbeit zu beschreibenden Versuche einer Synthese des Cystins haben ihren Endzweck nicht erreicht. Immerhin sind die dabei gemachten Beobachtungen wenigstens zum Theil insofern von Bedeutung, als sie wohl den einen oder anderen Weg als besonders geeignet erscheinen lassen, auf welchem diese Synthese vielleicht ausgeführt werden kann. Wenn dem Cystin die früher aufgestellte Formel zukommt, so würde ein einfacher Weg zu seiner Synthese vom α-Alanin oder der Brenztraubensäure ausgehen.

Aus dem Alanin könnte Cystin entstehen, wenn Ersteres beim Erhitzen mit Schwefel unter Schwefelwasserstoffentwickelung sich mit diesem verbindet im Sinne der Gleichung:

$$2\,C_3H_7NO_2 + 3\,S = H_2S + C_6H_{12}N_2S_2O_4.$$

Der Versuch zeigte, dass beim Erhitzen des Alanins mit Schwefel zwar Schwefelwasserstoff entwickelt wird, dabei aber immer andere Reactionen unter Abspaltung von Wasser eingeleitet werden, bei welchen nie Spuren von Cystin entstehen.

Günstigere Bedingungen, als das Alanin, schien für manche synthetische Versuche das Benzoylalanin darzubieten, welches, wie Baum (diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 467) gezeigt hat, leicht durch Benzoylirung aus dem Alanin erhalten werden kann. Bei der Darstellung grösserer Mengen dieses Körpers wurde das folgende Verfahren, welches in einigen Punkten von der von Baum benützten Methode abweicht, als zweckmässig gefunden.

Da über das Benzoylalanin bis jetzt nur einige dürftige Angaben vorliegen, gebe ich im Folgenden auch meine Beobachtungen über diese Substanz wieder.

1. Benzoylamidopropionsäure,

$C_{10}H_{11}NO_3$.

10 gr. Alanin wurden in 100 gr. Wasser und 300 cbcm. 10procentiger Natronlauge gelöst, und mit 45 cbcm. Benzoylchlorid unter guter Kühlung durchschüttelt, bis der Geruch nach Benzoylchlorid verschwunden war. Das gebildete Benzoylalanin und die Benzoësäure wurden mit Salzsäure abgeschieden und getrocknet. Ein Theil des trockenen Productes wurde mit fünf Theilen Aether zur Entfernung der Benzoësäure ausgeschüttelt und die letzten Spuren von Benzoesäure mit Petroläther ausgewaschen. Durch Umkrystallisiren des Rückstandes aus heissem Wasser erhält man reines Benzoylalanin vom Schmelzpunkt 165—166° (vergl. Baum, diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 467). Das Benzoylalanin löst sich in 250 Theilen kaltem Wasser; aus gesättigten Lösungen scheidet es sich in sechsseitigen Blättchen aus. In Alkohol ist es leicht, in Aether schwer löslich, doch kann es aus wässerigen Lösungen mit viel Aether ausgeschüttelt werden. In Petroläther ist es unlöslich. Es ist wie die Hippursäure nicht unzersetzt flüchtig; bei der trockenen Destillation entsteht Benzoësäure, Ammoniak, Wasser, Benzonitril und Kohlensäure. Die Alkalisalze sind in Wasser sehr leicht löslich. Bas Bariumsalz wurde in Form einer gummiartigen Masse erhalten. Die Blei- und Quecksilberverbindungen sind in Wasser unlösliche amorphe Niederschläge. Beim Erhitzen des Benzoylalanins in Lösung mit Kupferhydroxyd erhält man krystallisirte blaugrüne Salze. Silberoxyd wird beim Erwärmen mit der wässerigen Lösung des Benzoylalanins gelöst. Beim Erkalten krystallisirt das Silbersalz in lichtbeständigen Blättchen aus, die sich sehr schwer in Wasser, leicht in kaltem Ammoniak lösen. Dasselbe ist unlöslich in Alkohol. Die Analyse stimmt für die Formel $C_{10}H_{10}NO_3Ag$.

Silberbestimmung.

0,1935 gr. Substanz gaben beim Glühen 0,0696 metallisches Silber, entsprechend 35,99 % Ag; die Theorie verlangt 36 %.

2. Benzoylamidopropionsäureäthylester, $C_{12}H_{15}NO_3$.

Da das Benzoylalanin bei der trockenen Destillation sich vollständig zersetzt, so wurde der Ester dargestellt, um denselben in später zu beschreibender Weise mit Schwefel in Reaction zu bringen. Durch die Anwendung des Esters sollte auch der Abspaltung von Carboxyl bei diesem und anderen Versuchen vorgebeugt werden. Zur Darstellung des Esters wurde eine alkoholische Lösung von Benzoylalanin mit trockenem Salzsäuregas gesättigt und über Nacht stehen gelassen. Beim Uebersättigen der Flüssigkeit mit Natronlauge wurde der Ester abgeschieden und durch einmalige Krystallisation aus heissem Wasser rein dargestellt. Er bildet feine Nadeln vom Schmelzpunkt 76—77°. Aus 20 gr. Benzoylalanin wurden 18 gr. Ester gewonnen.

Analyse:

I. 0,1951 gr. Substanz lieferten 0,4694 gr. CO_2, entsprechend 65,04% C, und 0,1252 gr. H_2O = 7,13% H.

II. 0,1761 gr. Substanz gaben bei 10° C. und 755 mm. B. 9,8 cbcm. feuchten Stickstoff, entsprechend 6,62% N.

		Berechnet für $C_{12}H_{15}NO_3$:			Gefunden:
C_{12}	=	144	=	65,16%	65,04%
H_{15}	=	15	=	6,78 »	7,13 »
N	=	14	=	6,33 »	6,62 »
O_3	=	48	=	21,72 »	—
		221		99,99%.	

Der Ester ist fast unlöslich in kaltem Wasser, leicht löslich in Alkohol und Aether. Ueber 270° siedet der Ester, wobei aber stets unter Bildung gefärbter Producte Zersetzung eintritt, so zwar, dass man aus dem Destillate nur einen kleinen Theil der unveränderten Substanz wieder gewinnen kann.

Zur weiteren Charakterisirung der Benzoylamidopropionsäure wurde noch ihr Amid dargestellt.

Benzoylamidopropionsäureamid, $C_{10}H_{12}N_2O_2$.

3 gr. Aethylester werden mit 50 cbcm. starkem wässerigem Ammoniak kurze Zeit erwärmt und 12 Stunden bei Seite gestellt. Beim Eindampfen der Flüssigkeit erhält man kleine Krystalle, die aus verdünntem Alkohol sich in dicken Nadeln vom Schmelzpunkt 226—227° ausscheiden. Die Krystalle sind weiss und sehen etwas verwittert aus. In Wasser sind sie schwer, in Alkohol leicht löslich. Erhitzt man sie über ihren Schmelzpunkt, so tritt vollständige Zersetzung ein.

Stickstoffbestimmung.

0,1881 gr. Substanz gaben 22,2 cbcm. feuchten Stickstoff bei 10° C. und 753,5 mm. B., entsprechend 14,01 %.

Berechnet für $C_{10}H_{12}N_2O_2$:	Gefunden:
14,57 % N	14,01 % N.

1. Versuche mit der Benzoylverbindung des Alanins.

Mit der freien Säure, sowie mit dem Ester wurden folgende Versuche in synthetischer Richtung ausgeführt. Es war denkbar, dass das Wasserstoffatom des mittelständigen Kohlenstoffatoms durch Chlor ersetzbar sei, welches dann leicht gegen die SH-Gruppe ausgetauscht werden konnte. Concentrirtes Chlorwasser wirkte jedoch in der Weise ein, dass Benzoësäure gebildet wurde, ohne dass es gelungen ist, ein Chlorproduct zu isoliren. Um die schädliche Wirkung des Wassers zu umgehen, wurde die Bromirung in Chloroformlösung versucht, jedoch ohne besseren Erfolg. Es wurde nämlich jedesmal der Stickstoff in Form von Bromammonium ausgeschieden, so dass angenommen werden musste, dass trotz der schützenden Benzoylgruppe die Bromirung dennoch am Imidwasserstoff stattgefunden hat.

Werden Ester und Schwefel in Reagirröhren zusammengeschmolzen, so entweichen Ströme von Schwefelwasserstoff. Die nach dem Erhitzen erhaltene Reactionsmasse wurde zur Abspaltung der Benzoylgruppe mit Salzsäure im Rohre erhitzt, vom Schwefel abfiltrirt und mit Natronlauge und Bleiacetat direct auf Cystin geprüft. Es fand keine Abspaltung von Schwefelblei statt. Schwefelchlorür S_2Cl_2 ist ohne Einwirkung auf den Ester.

2. Versuche mit der Brenztraubensäure.

Nachdem die Versuche, von Alanin aus zum Cystin zu gelangen, fehlgeschlagen waren, wurde bei weiteren Versuchen die Brenztraubensäure als Ausgangmaterial verwendet.

Baumann (Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 18, S. 263) hat schon früher versucht, ein durch die Phenylgruppe C_6H_5 substituirtes Cystëin darzustellen. Er ging dabei von der Phenylthioxypropionsäure aus, welche man leicht erhält, wenn Brenztraubensäure und Phenylmercaptan zusammengebracht werden. Die Reaction vollzieht sich nach folgender Gleichung:

$$CH_3 - CO - COOH + HSC_6H_5 = CH_3 - C\begin{matrix} \diagup OH \\ -COOH \\ \diagdown SC_6H_5 \end{matrix}$$

Phenylthiooxypropionsäure.

Letztere Säure krystallisirt zwar, ist aber im Uebrigen recht unbeständig, so dass es nicht gelungen ist, Chlor oder die Amidogruppe in dieselbe einzuführen. In ähnlichem Sinne wirkte König (Inaugural-Dissertation, Erlangen 1887). Derselbe versuchte es, von der Chlorbenzolsulfinsäure und der Brenztraubensäure aus zu der recht beständigen p-Chlorphenylsulfonoxypropionsäure zu gelangen. Es trat hier jedoch Zersetzung der Brenztraubensäure ein.

In dem Aethylcystëin haben wir einen Körper kennen gelernt, dessen schwerere Zersetzbarkeit Alkalien gegenüber ohne Zweifel durch die festere Bindung der Thioäthylgruppe bedingt ist. Es lag daher nahe, zu versuchen, zur Synthese des Aethylcystëins die Aethylmercaptanbrenztraubensäure

$$CH_3 - C\begin{matrix} \diagup OH \\ -COOH \\ \diagdown SC_2H_5 \end{matrix}$$

zu benützen, welche durch Zusammenbringen äquivalenter Mengen von Aethylmercaptan und Brenztraubensäure in der Kälte erhalten wird. Sie bildet eine syrupdicke Flüssigkeit, welche auch bei starker Abkühlung nicht erstarrt. Diese Säure, die Aethylthiooxypropionsäure, rechtfertigte aber keineswegs die Erwartungen, welche durch die festere Bindung des Thioäthylrestes in dem Aethylcystëin

angezeigt werden. Denn die Thioäthylgruppe ist in ihr keineswegs fester gebunden, als der Mercaptanrest in der Phenylmercaptanbrenztraubensäure. Es erfolgt vielmehr die Abspaltung des Mercaptans leichter, als bei der Thiophenyloxypropionsäure. In offenen Schalen mit etwas Wasser zusammengebracht, gibt sie in ein bis zwei Tagen ihr Mercaptan ab, indem Brenztraubensäure zurückbleibt. In Aether und Alkohol ist sie löslich, sie ist nicht befähigt, krystallisirende Salze zu bilden. Löst man die Säure in etwas absolutem Alkohol und fügt einen Ueberschuss von alkoholischem Ammoniak hinzu, so entsteht ein intensiver Geruch nach Aethylmercaptan, zugleich scheidet sich ein schmieriges Product ab, welches wegen seiner Unbeständigkeit nicht isolirt werden konnte. Es ist wahrscheinlich, dass dieses Product der Hauptsache nach aus dem Ammoniumsalz der Imidobrenztraubensäure besteht und dass seine Bildung durch eine Reaction des primär gebildeten Ammoniumsalzes der Aethylmercaptanbrenztraubensäure mit Ammoniak im Sinne folgender Gleichungen erfolgt:

$$\text{I.}\quad CH_3-\overset{\diagup OH}{\underset{\diagdown SC_2H_5}{C}}-COONH_4 + NH_3 = HSC_2H_5 + CH_3-\overset{\diagup OH}{\underset{\diagdown NH_2}{C}}-COONH_4.$$

$$\text{II.}\quad CH_3-\overset{\diagup OH}{\underset{\diagdown NH_2}{C}}-COONH_4 = H_2O + CH_3-C=NHCOONH_4.$$

Beim Vergleiche der drei Körper:

Aethylmercaptanbrenztraubensäure $CH_3-\overset{\diagup OH}{\underset{\diagdown SC_2H_5}{C}}-COOH$

Phenylmercaptanbrenztraubensäure $CH_3-\overset{\diagup OH}{\underset{\diagdown SC_6H_5}{C}}-COOH$

p-Chlorphenylsulfonoxypropionsäure $CH_3-\overset{\diagup OH}{\underset{\diagdown SO_2C_6H_4Cl}{C}}-COOH$

findet man, dass je saurer die schwefelhaltigen Gruppen, desto fester sie an das hydroxylirte Kohlenstoffatom gebunden sind. Es nimmt also im Maasse der sauren Eigenschaften der ein-

getretenen schwefelhaltigen Gruppen auch die Beständigkeit des Moleküls zu. So kann man zum Beispiel die p-Chlorphenylsulfonoxypropionsäure mit Natronlauge kochen, ohne dass Sulfinsäure abgespalten wird. Es ist aus diesen Versuchen mit ziemlicher Sicherheit zu entnehmen, dass es wohl kaum gelingen dürfte, auf diesem Wege zu dem Aethylcystëin zu gelangen. Die Tendenz des Ammoniaks, das Mercaptan zu verdrängen, ist weit grösser als die, unter Wasseraustritt an die Stelle der Hydroxylgruppen zu treten.

Wird bei der Darstellung des Additionsproductes nicht gekühlt, so erwärmt sich das Gemenge von Aethylmercaptan und Brenztraubensäure bis zum Siedepunkt des Mercaptans. Aus dieser Reactionsmasse lässt sich mit Ammoniak ein gut krystallisirendes Ammoniumsalz gewinnen, das in mehr als zolllangen schön ausgebildeten Krystallen von Schmelpunkt 174 bis 176° anschiesst. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen stellte sich heraus, dass dasselbe identisch war mit dem auf einem anderen Wege gewonnenen Ammoniumsalz der Diäthylthiopropionsäure. Es kommt ihm daher die Formel zu:

$$CH_3-C\begin{matrix}\diagup SC_2H_5\\ -COONH_4.\\ \diagdown SC_2H_5\end{matrix}$$

Es ist also hier die Bildung des Mercaptols der Brenztraubensäure ohne die Gegenwart von wasserentziehenden Mitteln erfolgt. Reichlicher erhält man dieses Salz in der unten beschriebenen Weise.

Diäthylthiopropionsaures Ammonium,

$$CH_3-C\begin{matrix}\diagup SC_2H_5\\ -COONH_4.\\ \diagdown SC_2H_5\end{matrix}$$

1 Molekül Brenztraubensäure und 2 Moleküle Aethylmercaptan werden unter Abkühlung gemischt. In das dicke Oel wird Salzsäure ungefähr eine halbe Stunde eingeleitet und dann zur Entfernung der Salzsäure auf dem Wasserbade schwach erwärmt und mit Wasser gewaschen. Gibt man zu

dem Oel vorsichtig Ammoniak, so erstarrt es zu einem Krystallbrei von feinen Nadeln, welche durch Umkrystallisiren aus Alkohol gereinigt werden können. Sie sind in Alkohol und Wasser leicht löslich und krystallisiren aus beiden Lösungsmitteln ausgezeichnet. Der Schmelzpunkt der Substanz liegt bei 174—176°.

Die Analyse des aus Alkohol umkrystallisirten Salzes lieferte Werthe, die für die Formel $C_7H_{17}S_2NO_2$ stimmen:

I. 0,1837 gr. Substanz gaben 0,2650 gr. CO_2, entsprechend 39,34 % C, und 0,1285 gr. H_2O, gleich 7,78 % H.

II. 0,2018 gr. Substanz lieferten bei 11° C. uund 740 mm. B. 11,7 cbcm. feuchten Stickstoff, entsprechend 6,72 % N.

III. 0,1702 gr. Substanz lieferten 0,3730 gr. $BaSO_4$, entsprechend 30,09 % S.

		Berechnet für $C_7H_{17}S_2NO_2$:			Gefunden:
C_7	=	84	=	39,81 %	39,34 %
H_{17}	=	17	=	8,10 »	7,78 »
S_2	=	64	=	30,33 »	30,09 »
N	=	14	=	6,63 »	6,72 »
O_2	=	32	=	30,33 »	—
		211		100,00.	

Aus dem Ammoniumsalz wird durch Säuren die freie Säure als ein übelriechendes Oel abgeschieden, das sich Alkalien gegenüber durch eine grosse Beständigkeit auszeichnet. Man kann halbe Tage lang mit Natronlauge und Fehling-scher Lösung kochen, ohne dass auch nur Spuren von Kupfermercaptid gebildet werden, um so auffallender ist daher die leichte Abspaltung von Mercaptan durch ammoniakalische Silberlösung. Schon beim ganz gelinden Erwärmen mit ammoniakalischer Silberlösung wird Silbermercaptid als flockiger Niederschlag abgeschieden. Die Silberbestimmung der trockenen Substanz ergab folgende Werthe:

0,2790 gr. Substanz hinterliessen beim Glühen 0,1795 gr. metallisches Silber entsprechend 64,34 %; das Silbermercaptid verlangt 63,90 %.

Beim Erwärmen der Silberverbindung mit verdünnter Salzsäure wurde sie in Mercaptan und Chlorsilber zerlegt.

Die leichte Abspaltbarkeit des Mercaptans in dem oben geschilderten Falle legte den Gedanken nahe, durch vorsichtige

Einwirkung von ammoniakalischer Silberlösung nur eine der beiden Thioäthylgruppen abzuspalten und die Reaction im Sinne der folgenden Gleichung einzuleiten:

$$CH_3-C\begin{matrix}\diagup SC_2H_5\\ -COOH\\ \diagdown SC_2H_5\end{matrix} + AgOH + NH_3$$

$$= H_2O + AgSC_2H_5 + CH_3-C\begin{matrix}\diagup NH_2\\ -COOH.\\ \diagdown SC_2H_5\end{matrix}$$

Dabei zeigte sich aber, dass das bei der Reaction verwendete Silber immer zur Abspaltung von beiden Thioäthylgruppen verwendet wird, und wenn auf 1 Molekül des dithioäthylpropionsauren Ammoniums 1 Molekül salpetersaures Silber zur Anwendung kam, die Hälfte des Ammoniumsalzes wieder gewonnen werden konnte.

Die Eigenschaft des Quecksilbers, mit Leichtigkeit Mercaptide zu bilden, wurde zu einem ähnlichen Versuche benützt, welcher im Folgenden beschrieben wird:

Quecksilberacetamid (1 Molekül) wurde in absolutem Alkohol gelöst und diese Lösung mit einer solchen von 2 Molekülen Ammoniumsalz in Alkohol 20—30 Minuten lang geschüttelt. Es entstand sofort ein Niederschlag, welcher zum grössten Theile aus Quecksilbermercaptid bestand, welches aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt in perlmutterglänzenden Blättchen erhalten wurde, die unschwer als Quecksilbermercaptid erkannt wurden. Es ist aber auch bei dieser Reaction nicht gelungen, das gesuchte Aethylcystëin zu erhalten, weil auch immer beide Mercaptanreste gleichzeitig austreten.

Ein anderer Weg, um aus der Brenztraubensäure zum Cystin zu gelangen, bot sich dar, falls es ermöglicht werden konnte, die geschwefelte Brenztraubensäure $CH_3-CS-COOH$ darzustellen. Dieser Körper entsteht nicht, wie Böttinger (Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 188, S. 320) gezeigt hat, bei Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf Brenztraubensäure. Dabei tritt vielmehr eine Reduction ein und als Hauptproduct gewinnt man die Thiomilchsäure. Es wurde deshalb versucht, die Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf die Brenztrauben-

säure bei Gegenwart von Condensationsmitteln wie Chlorzink und Phosphoroxychlorid zu bewirken, in der Hoffnung, dass die dabei gebildete Thiobrenztraubensäure mit Ammoniak zunächst in Cystëin übergehen würde im Sinne der folgenden Gleichung:

$$CH_3 - CS - COOH + NH_3 = CH_3 - C\begin{matrix} \diagup SH \\ -COOH. \\ \diagdown NH_2 \end{matrix}$$

Allein ein in dieser Richtung unternommener Versuch führte nicht zu dem angestrebten Ziel, wahrscheinlich desshalb, weil bei der Einwirkung des Schwefelwasserstoffes auf die Brenztraubensäure nicht die einfach geschwefelte, sondern complicirter zusammengesetzte Producte entstehen, welche, da sie nicht krystallisiren, nicht getrennt werden konnten.

Auch ein Versuch, von der Isonitrosobrenztraubensäure aus, welche man durch Einwirkung von Hydroxylamin auf Brenztraubensäure erhält, zum Cystëin oder Cystin zu gelangen, blieb ohne Resultat. Die Isonitrosobrenzstraubensäure wurde in der Erwartung, dass eine gleichzeitige Reduction und Anlagerung von Schwefel im Sinne der folgenden Gleichung eintrete:

$$CH_3 - C = NOHCOOH + 2H + H_2S = CH_2 - C\begin{matrix} \diagup NH_2 \\ -COOH \\ \diagdown SH \end{matrix} + H_2O$$

mit überschüssigem Schwefelammonium digerirt. In dem Rückstande konnte weder Cystëin noch Cystin nachgewiesen werden.

Es wurde endlich noch ein Versuch unternommen, aus Thioacetamid, welches nach der Vorschrift von Hantsch (Annalen, Bd. 250, S. 264) in grosser Menge leicht gewonnen werden kann, das Cystin darzustellen. Da in dem Thioacetamid $CH_3C - SNH_2$ das Schwefelatom leicht beweglich ist und bei manchen Reaction in die SH-Gruppe umgewandelt wird, so lag der Gedanke nahe, durch Addition von Blausäure zu dem Thioacetamid das Nitril des Cystëins $CH_3 - C\begin{matrix} \diagup CN \\ -SH \\ \diagdown NH_2 \end{matrix}$ zu erhalten. Allein die Versuche, eine solche

Anlagerung herbeizuführen, lehrten, dass beide Körper nicht auf einander einwirken.

Die geschilderten Versuche zeigen, dass es mit besonderen Schwierigkeiten verknüpft ist, an ein und demselben Kohlenstoffatom eine gleichzeitige Anfügung von SH- und NH_2-Gruppen zu erzielen, und die Aufgabe, das Cystin synthetisch darzustellen, ist trotz seiner relativ einfachen Zusammensetzung wohl aus diesem Grunde ungelöst geblieben.

Zur Kenntniss des Verhaltens der Gallus- und Gerbsäure im Organismus.

Von

Carl Th. Mörner (Upsala).

(Berichtigung, mitgetheilt von E. Baumann.)

(Der Redaction zugegangen am 25. April 1892.)

In der S. 255 u. ff. dieses Bandes erschienenen Arbeit über den in der Ueberschrift genannten Gegenstand sind in den Tabellen einige Druckfehler stehen geblieben, welche mir bei der Correctur entgangen sind. Da für das Verständniss der Tabellen ihre Richtigstellung durchaus nöthig ist, möchte ich dieselbe nach den Angaben von Herrn Carl Th. Mörner hierdurch bewirken:

Seite 260 in Tab. I letzte Columne ist an Stelle der 2. Ziffer (von oben) statt 30 zu lesen: 32.

Seite 260 in Tab. I 5. Columne ist an Stelle der 5. Ziffer in der Verticalreihe statt 88 zu setzen: 38.

Seite 266 in Tab. III 2. Columne ist die Reihe, welche die eingegebenen Mengen der Säure beim Menschen enthält, ganz zu ändern: Statt 2,43 gr. ist zu setzen 2,0 gr.
» 1,40 » » » » 4,0 »
» 6,78 » » » » 6—8 »

Ferner ist Seite 256 statt der dort angegebenen Formel der Gallussäure

$$\begin{array}{l} C_6H_2(OH)_3-CO \\ \qquad\qquad\quad\; | \\ C_6H_2(OH)_3-O\,COOH \end{array} \quad \text{zu lesen:} \quad \begin{array}{l} C_6H_2(OH)_3-CO \\ \qquad\qquad\quad\; | \\ C_6H_2(OH)_2 \;\; O\,COOH. \end{array}$$

Seite 264, in der Anmerkung muss es in der zweiten Zeile von oben statt 50 cbcm. bis 100 cbcm. heissen: 50 cbcm. bis 10 cbcm.

Freiburg i. B., April 1892.

